

**Einfluß von Vitamin A
auf die Antikörperbildung
beim Küken**

Eberhard Beck

1974

Aus dem Institut für Tierphysiologie
Vorstand: Prof.DDr.Dr.h.c.mult.Johannes Brüggemann
und dem Institut für Ernährungsphysiologie
Kommissarischer Vorstand: Prof.DDr.Dr.h.c.mult.Johannes Brüggemann
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

E I N F L U S S V O N V I T A M I N A A U F D I E
A N T I K Ö R P E R B I L D U N G B E I M K Ü K E N

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Eberhard Beck

aus

Ulm/Do.

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme

Referent: Prof. DDr. Dr.h.c.mult. J. Brüggemann

Korreferent: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

Tag der Promotion: 26. Juli 1974



ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ABC	Antigen-Bindungs-Kapazität
a.i.	ante immunisationem
BGG	Bovines Gammaglobulin
BSA	Bovines Serumalbumin
HA	Hämagglutination
HAH	Hämagglutinationshemmung
HNL	Heisdorf-Nelson-Lohmann
HSA	Human-Serumalbumin
i.m.	intramuskulär
i.p.	intraperitoneal
KG	Körpergewicht
NS	Normal-Serum
p.i.	post immunisationem
RES	Retikuloendotheliales System
s.c.	subcutan
VA	Vitamin A-Azetat
VAS	Vitamin A-Säure



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554606_0024

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Literatur	2
2.1 Einfluß von Vitamin A auf Resistenz- und Immunitätsmechanismen	2
2.1.1 Resistenzmechanismen	2
2.1.1.1 Allgemeine Resistenzmechanismen	2
2.1.1.2 Resistenzfaktoren	6
2.1.1.2.1 Zelluläres System	6
2.1.1.2.2 Humorales System	7
2.1.2 Immunitätsmechanismen	11
2.1.2.1 Zellvermittelte Immunität	11
2.1.2.1.1 Allergie vom verzögerten Typ	11
2.1.2.1.2 Transplantatabstoßung	12
2.1.2.2 Humorales Immunsystem	13
2.1.2.2.1 "Normal"-Antikörper	13
2.1.2.2.2 Immunglobuline	14
2.1.2.2.2.1 Besprechung der Literaturbefunde	14
2.1.3 Immunologische Toleranz	20
2.2 Mögliche Ursachen für den Einfluß von Vitamin A auf Resistenz- und Immunitätsmechanismen	20
2.2.1 Membraneffekt	20
2.2.2 Proteinsynthese	23
3. Eigene Untersuchungen	25
3.1 Methodik	25
3.1.1 Tiermaterial	25
3.1.2 Haltung der Versuchstiere	25
3.1.3 Versuchsdieten	25
3.1.4 Fütterung	27
3.1.5 Bestimmung der Mortalitätsrate	28
3.1.6 Immunisierung der Tiere	28
3.1.7 Blutentnahme	30
3.1.8 Radioimmunologische Antikörperbestimmung	31

3.1.8.1 Markierung des HSA mit ^{125}J	31
3.1.8.2 Filtration des ^{125}J -HSA an Sephadex G - 50	31
3.1.8.3 Überprüfung des ^{125}J -HSA	33
3.1.8.3.1 Quantitative HSA-Bestimmung	33
3.1.8.3.2 Bestimmung des freien ^{125}J	33
3.1.8.3.3 Bestimmung des denaturierten HSA-Anteils	34
3.1.8.3.4 Berechnung der spezifischen Aktivität und der Anzahl Atome ^{125}J pro Molekül HSA	34
3.1.8.4 Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test	35
3.1.8.4.1 Für den ABC-Test benötigte Reagenzien, Seren und Antigen- verdünnungen	35
3.1.8.4.2 Testverfahren	36
3.1.9 Statistische Auswertung	38
3.1.10 Vitamin A-Bestimmung in der Leber	40
3.2 Ergebnisse	41
3.2.1 Markierung des Antigens mit ^{125}J	41
3.2.2 Versuch 1	41
3.2.2.1 Versuchsziel	41
3.2.2.2 Versuchsanordnung	41
3.2.2.3 Versuchsergebnisse	42
3.2.3 Versuch 2	43
3.2.3.1 Versuchsziel	43
3.2.3.2 Versuchsanordnung	44
3.2.3.3 Versuchsergebnisse	44
3.2.4 Versuch 3	46
3.2.4.1 Versuchsziel	46
3.2.4.2 Versuchsanordnung	47
3.2.4.3 Versuchsergebnisse	47
3.2.5 Versuch 4	47
3.2.5.1 Versuchsziel	47
3.2.5.2 Versuchsanordnung	49
3.2.5.3 Versuchsergebnisse	49

3.2.6 Statistische Vergleiche zwischen den Antikörpertitern identischer Gruppen aus verschiedenen Versuchen	52
3.2.6.1 Vergleiche zwischen Versuch 1 und 2	52
3.2.6.2 Vergleiche zwischen Versuch 2 und 3	52
3.2.6.3 Vergleiche zwischen Versuch 2 und 4	53
3.2.6.4 Vergleiche zwischen Versuch 3 und 4	53
3.2.7 Vitamin A-Gehalt der Leber	53
4. Diskussion	55
4.1 Versuchsanordnung	55
4.2 Beeinflussung der Primärantwort 4 und 8 Wochen alter Küken durch Vitamin A	56
4.3 Beeinflussung der Sekundärantwort 8 Wochen alter Küken durch Vitamin A	59
4.4 Einfluß von Vitamin A auf Körperwachstum und Vitamin A-Speicherung in der Leber	60
5. Zusammenfassung	63
6. Literaturverzeichnis	67

1. EINLEITUNG

Der Suche nach Nahrungsfaktoren, die die Abwehrbereitschaft eines Wirtes gegenüber schädlichen Umwelteinflüssen zu steigern vermögen, kommt seit dem gehäuften Auftreten sog. "Faktorenerkrankungen" immer größere Bedeutung zu, da bei diesen Erkrankungen auf Grund der Vielfalt ihrer Ursachen i.d.R. Antibiotika, Chemotherapeutika und Impfstoffe versagen.

Besonderer Wert sollte auf die Aktivierung von Resistenz- und Immunitätsmechanismen des Jungtieres gelegt werden, da die entsprechenden Organ- und Zellsysteme in der postnatalen Lebensphase meist noch unvollständig entwickelt sind.

Das Zusammenspiel zwischen Ernährung, Resistenz und Immunität wird neben anderen Faktoren vor allem durch ein optimales Angebot an Vitaminen reguliert. Dem Vitamin A, unter dem alten Namen "Antiinfektiöses Vitamin" bekannt, wird hierbei eine bedeutende Rolle zugeschrieben.

Gegenstand vorliegender Arbeit war es, die Immunglobulinbildung 4 und 8 Wochen alter Küken in Abhängigkeit von ihrer Vitamin A-Versorgung unter Einbeziehung verschiedener immunologischer Fragestellungen zu untersuchen.

2. L I T E R A T U R

2.1 Einfluß von Vitamin A auf Resistenz- und Immunitätsmechanismen*

Das Vitamin A spielt eine bedeutende Rolle innerhalb des komplexen Abwehrsystems eines Organismus. Dieses Abwehrsystem setzt sich aus unspezifischen, das heißt gegen eine Vielzahl von Infektionserregern gerichteten Abwehrfaktoren (Resistenz) und spezifischen, sich nur gegen bestimmte Erreger (Antigene) entwickelnden Abwehrmechanismen (Immunität) zusammen (102).

2.1.1 Resistenzmechanismen

Die biologischen Grundlagen der Resistenz setzen sich aus allgemeinen Resistenzmechanismen sowie aus ererbten Resistenzfaktoren zusammen. Die Resistenzfaktoren lassen sich in zelluläre und humorale Schutzmechanismen einteilen. Da jedoch das Resistenzgeschehen komplexer Natur ist, beeinflussen sich seine Komponenten wechselseitig und können nicht scharf voneinander getrennt werden.

2.1.1.1 Allgemeine Resistenzmechanismen

Die Grundlagen der allgemeinen Resistenzmechanismen bilden die äußeren Körperoberflächen des Wirtsorganismus und die in seinem Inneren vorhandenen Schutzbarrieren. Das Vitamin A beeinflusst die Aktivität dieses allgemeinen Abwehrsystems, indem es für den Aufbau funktionstüchtiger Epithelien sorgt (108, 163). Diese Eigenschaft des Vitamin A führte zu der Bezeichnung "Epithelschutzvitamin".

*Die Untergliederung dieses Kapitels wurde in Anlehnung an Schemata von Mayr (101, 102) vorgenommen

Das Vitamin A scheint primär über die Synthese von Mucopolysacchariden, die am Aufbau von Gerüst- und Schleimsubstanzen der Zelle beteiligt sind, die Funktion der Epithelien zu beeinflussen:

In experimentellen Untersuchungen an Darmschleimhaut- (112, 164, 165) und Blutzellen (106) konnte nachgewiesen werden, daß das Vitamin A die Mucopolysaccharidsynthese über den Einbau von Schwefel und Glucoseresten in Hexosaminmoleküle steuert. Auch über eine Aktivierung von an der Mucopolysaccharidsynthese beteiligten Enzymen durch Vitamin A wird berichtet (166).

Mit der Verminderung der Schutzfunktion der Epithelien im Vitamin A-Mangelzustand geht eine Resistenzminderung von Oberflächenzellen gegenüber dem Eindringen von Infektionserregern einher (23). Diese Beobachtung führte schon bald nach der Entdeckung des Vitamins um 1915 zu der Bezeichnung "Antiinfektiöses Vitamin" (53).

Die Tabellen 1 - 3 geben einen Überblick über den Einfluß eines Vitamin A-Mangels auf die Resistenz gegenüber einigen bakteriellen, parasitären und Virus-Infektionen.

Eine zusätzliche Verabreichung hoher Vitamin A-Dosen als prophylaktische Maßnahme zur Steigerung der Resistenz gegenüber Infektionen führte zu keinen einheitlichen Ergebnissen. Im Gegensatz zu Greene (51) und Green et al. (53, 54, 109) konnten andere Autoren (9, 47, 91, 170) keine prophylaktische antiinfektiöse Wirksamkeit selbst hoher Vitamin A-Gaben nachweisen.

Tabelle 1

Vitamin A-Mangel und Resistenzminderung gegenüber bakteriellen Infektionen

Wirt	Erreger	Autoren
Mensch (Säugling)	verschiedene Infektionen	Bloch (15)
Mensch (Säugling)	verschiedene Infektionen	Clausen (19)
Kalb	Salmonellen	Cohrs (20)
Huhn	verschiedene Infektionen	Harms (61)
Küken	Salmonellen	Jahn (78)
Küken	P. aeruginosa	Nillo und Bereau (115)
Ratte	S. typhi murium	Guggenheim und Buechler (56)
Ratte	verschiedene Infektionen	Mellanby und Green (109)
Ratte	B. anthracis E. coli M. tuberculosis	Boynton und Bradford (16)
Ratte	B. anthracis	Werkman (156)
Ratte	S. paratyphi	Lassen (90)
Ratte	S. paratyphi	Verder (149)
Ratte	Diphtherietoxin	Werkman et al.(157)
Ratte	S. typhi murium	Kligler et al.(85)

Tabelle 2

Vitamin A-Mangel und Resistenzminderung gegenüber Virus-
infektionen

Wirt	Erreger	Autoren
Maus	Influenza A suis	Underdahl et al.(147)
Ferkel	Aujeszky-Virus	Toneva (143)
Ratte	Poliomyelitis-Virus	Weaver (151)

Tabelle 3

Vitamin A-Mangel und Resistenzminderung gegenüber parasitären
Infektionen

Wirt	Erreger	Autoren
Huhn	Ascaridia lineata	Ackert et al. (1)
Küken	Coccidien	Gerriets (47)
Küken	Coccidien	Schoop et al. (128)
Schwein	Ascaridia lineata	Hiraishi (67)
Hund	Ascaridia lineata	Wright (169)
Ratte	Trichinella spiralis	Mc Coy (105)
Ratte	Nippostrongylus moris	Spindler (132)

Gylstorff (57, 58) und Kolb (84) weisen darauf hin, daß bei der heutigen Intensivhaltung des Geflügels einer optimalen Vitamin A-Versorgung der Tiere besondere Bedeutung zukommt, da die Züchtung auf hohe Wachstumsraten und Leistungen eine Aktivierung allgemeiner Resistenzmechanismen der Tiere erfordert.

2.1.1.2 Resistenzfaktoren

Sobald Infektionserreger die natürlichen Schutzbarrieren der Epithelien überwunden haben und in das Zellinnere, in Blut- oder Lymphgefäße gelangen, wird der Abwehrmechanismus zellulärer und humoraler Resistenzfaktoren in Tätigkeit gesetzt. Einige dieser Faktoren, wie z.B. das Lysozym (s.2.1.1.2.2), können jedoch ihre Wirkung schon vor dem Eindringen des Erregers in den Wirtsorganismus an der Zelloberfläche entfalten.

2.1.1.2.1 Zelluläres System

Das retikuloendotheliale System (RES), welches von Aschoff 1914 entdeckt wurde, umfaßt Retikulumzellen von Milz, Knochenmark, Leber, Thymus und Lymphgewebe, Endothelien der Blut- und Lymphkapillaren, Histiozyten des Bindegewebes, Mikroglia des ZNS sowie Sinuswandzellen von Milz, Leber, Nebenniere, Knochenmark und Hypophysenvorderlappen. Gemeinsam mit den Blutmonozyten werden diese Zellen unter dem Begriff Makrophagen zusammengefaßt, wohingegen die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten und die eosinophilen Leukozyten zu den Mikrophagen zählen. Makro- und Mikrophagen werden unter dem Namen Phagozyten zusammengefaßt, da sie die Fähigkeit besitzen, Fremdsubstanzen aufzunehmen und zu verdauen. Dieser Vorgang wurde erstmals von Eli Metschnikoff (110), einem russischen Zoologen, beobachtet und von ihm als Phagozytose bezeichnet.

Die Phagozyten sind nicht allein als zelluläre Resistenzfaktoren von Bedeutung sondern spielen darüberhinaus eine wichtige Rolle bei der Immunabwehr, da die Antikörperbildung meist erst nach der Phagozytose des Antigens durch Phagozyten einsetzt (99, 126, 154).

Als Parameter für die Erfassung der Phagozytoseaktivität eines Organismus dient ein in vivo-Testverfahren nach Biozzi, Benacerraf und Halpern (13), welches auf der Bestimmung der Ausscheidungsrate von Kohlepartikeln (Phagozytoserate) aus dem zirkulierenden Blut basiert.

Gellhorn und Dunn (46) beobachteten, daß mit zunehmendem Vitamin A-Mangel die Phagozytoseaktivität bei Ratten sank. Andere Autoren hingegen konnten diesen Befund in experimentellen Untersuchungen an Menschen (39) und Ratten (56) nicht bestätigen.

Die als Folge eines Vitamin A-Mangels verminderte Phagozytoserate konnte bei Mäusen nach Verabreichung einer mit Vitamin A-Palmitat angereicherten Diät innerhalb von 30 Tagen wieder auf Normalwerte angehoben werden (22).

Herlyn (66) gelang es in Untersuchungen am Geflügel nicht, die Phagozytoserate des Blutes durch Vitamin A in Dosierungen bis zu 150.000 I.E./Tier zu beeinflussen.

Es ist noch nicht hinreichend geklärt, über welche Mechanismen das Vitamin A die Phagozytose beeinflusst. Wahrscheinlich ist diese Wirkung des Vitamins in seiner Eigenschaft, die Lysosomenmembran zu labilisieren, begründet (s.2.2.1).

2.1.1.2.2 Humorales System

Zu den humoralen Resistenzfaktoren im Blutplasma gehören Stoffe, die die Fähigkeit haben, das Wachstum und die Vermehrung von Infektionserregern im Organismus zu hemmen ohne Antikörpurnatur zu besitzen (18). Sie sind an verschiedene Globulinfraktionen des Serums gebunden (124).

Zu den unspezifischen humoralen Abwehrstoffen gehören unter anderem Lysozym, Komplement, Properdin und unspezifische antitoxische Serumproteine.

Lysozym

In den Phagozyten sind die aufgenommenen Partikel (z.B.Bakterien) der Einwirkung verschiedener bakterizider Stoffe, die hauptsächlich in den Granula (Lysosomen) lokalisiert sind, ausgesetzt

(42, 127). Die Lysosomen der neutrophilen Granulozyten enthalten unter anderem das Enzym Lysozym, welches Acetylamino-polysaccharide hydrolysiert und damit Bakterien, vor allem grampositive Kokken, zu lysieren vermag (141).

Untersuchungen von Feller und Mitarbeiter (39) ergaben, daß die Lysozymaktivität des Nasensekretes bei Vitamin A-arm ernährten Patienten keine Beeinträchtigung erfuhr. Anderson (3) hingegen beobachtete bei Kindern mit Vitamin A-Mangelerscheinungen eine starke Reduktion des Lysozymgehaltes in der Tränenflüssigkeit.

Komplement

Nach Humphrey und White (71) stellt "Komplement als Bestandteil von frischem normalem Blutserum ein System von Kofaktoren dar, das für die volle Wirksamkeit von Antikörpern gegen zelluläre Partikel notwendig ist". Das System besteht nach heutigen Kenntnissen aus 9 Komponenten, von denen einige thermolabil, andere thermostabil sind (83). Es spielt bei vielfältigen Formen der Auseinandersetzung zwischen Wirtsorganismus und Antigen eine wichtige Rolle. So aktiviert das Komplement bei der Phagozytose den Ambozeptor (Zell-Rezeptor in freiem Zustand) und ermöglicht eine Antigen-Antikörperreaktion, wodurch das mit einem Antikörperfilm überzogene korpuskuläre Antigen phagozytiert werden kann (100). Auch fördert das hitzelabile Komplement die enzymatische Verdauung der Bakterienzellwand durch Lysozym (83, 107).

Gegenstand zahlreicher Untersuchungen war die Frage, ob Vitamin A das Komplementsystem zu beeinflussen vermag.

In in vivo-Versuchen wiesen Ratten nach Verabreichung einer Vitamin A-Mangeldiät im Vergleich zu Kontrolltieren einen deutlich erniedrigten Komplementgehalt auf (12, 76, 117), der durch erneute Vitamin A-Zufuhr wieder angehoben werden konnte (12).

Dieser Befund ließ sich in Untersuchungen an Meerschweinchen (172), Kaninchen (51), Ratten (131), Mäusen (7) und Menschen (39) nicht bestätigen.

Um mögliche Ursachen für die Diskrepanz zwischen diesen Ergebnissen abzuklären, ist vor allem die Frage von Bedeutung, ob eine Reduktion der Futteraufnahme und -verwertung als mögliche Folge eines Vitamin A-Mangels in der Nahrung den Serum-Komplementgehalt per se zu beeinflussen vermag.

Während einige Autoren über einen Abfall des Serum-Komplement-titers von Ratten nach quantitativer Verminderung des Futterangebots berichten (86, 162), fanden Kolmer und Mitarbeiter (87) selbst nach einer 24-stündigen Hungerperiode den Komplementgehalt im Serum gegenüber ad libitum ernährten Kontrolltieren nicht verändert.

In in vitro-Versuchen wurde der Einfluß von Vitamin A auf die lytische Aktivität des Komplements vom Meerschweinchen gegenüber sensibilisierten Schaf-Erythrozyten überprüft. Die Komplementaktivität wurde insbesondere durch die Alkohol (Retinol)- und Aldehydform (Retinal) des Vitamins, in geringerem Maße durch Vitamin A-Azetat und Vitamin A-Säure inhibiert (12, 21, 103).

Die hohe Löslichkeit des Vitamin A in den Lipidregionen der Zellwand (s.2.2.1), die zu Struktur- und Permeabilitätsänderungen der Membran führen kann, wird als mögliche Ursache für die Veränderung der Komplementaktivität unter Vitamin A-Einfluß angesehen (118).

Properdin

Mit dem Namen Properdin bezeichnete Pillemer (122) einen an die Globulinfraktion des Plasmas gebundenen Faktor, der zusammen mit Komplement und Mg-Ionen Bakterien abtötet, Viren inaktiviert, abnorme Erythrozyten hämolysiert und Protozoen tötet.

Erst in letzter Zeit gelang es Zimmermann (171) in experimentellen Untersuchungen am Rind, das Properdin von den γ -Globulinen des Serums abzugrenzen.

In Seren von Ratten, die mit einer Vitamin A-freien Diät versorgt wurden, lag der Properdingehalt deutlich unter den Kontrollwerten (76). Diese Wirkung eines Vitamin A-Mangels scheint spezifischer Art zu sein, da die Erniedrigung des Properdingehaltes als Frühsymptom des Vitamin A-Mangels, d.h. lange vor Beginn der Wachstumsstörungen, zu beobachten war.

Antitoxische Serumeigenschaften

Emil von Behring (11) bezeichnete Serumfaktoren, die die Fähigkeit besitzen, mikrobielle, pflanzliche oder tierische Toxine in vivo und in vitro zu binden und zu neutralisieren, als Antitoxine. Die chemische Konstitution dieser Antitoxine ist noch weitgehend unbekannt.

Auch die Ausbildung dieser unspezifischen Serumfaktoren ist vitaminabhängig. Vitamin A-arm ernährte Ratten waren gegenüber Diphterietoxin (40) und Tetanustoxin (14) empfänglicher als die Kontrolltiere.

2.1.2 Immunitätsmechanismen

Paul Ehrlich (33) bezeichnete die spezifische Unempfindlichkeit des Organismus gegenüber Infektionen oder Giften als Immunität. Unter Immunität soll hier die spezifische Reaktion des Organismus auf einen antigenen Reiz verstanden werden.

Bei den Immunitätsmechanismen gilt es, zwischen zellvermittelter und humoraler Immunität zu unterscheiden.

2.1.2.1 Zellvermittelte Immunität

Die zellvermittelte oder Gewebe-Immunität erscheint phylo- und ontogenetisch früher als die humorale Immunität. Ihre Träger sind die weißen Blutzellen, unter ihnen vor allem die Lymphozyten, die in den lymphatischen Organen wie Milz, Lymphknoten und Knochenmark gebildet werden.

Wechselbeziehungen zwischen Vitamin A und Mechanismen der zellvermittelten Immunität sind bisher vor allem für die Allergie vom verzögerten Typ und die Transplantatabstoßung beschrieben worden.

2.1.2.1.1 Allergie vom verzögerten Typ

Die Allergie oder Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ (zelluläre Allergie) ist eine spezifische Immunreaktion, die sich erst einige Stunden bis Tage nach Kontakt des Organismus mit einem Antigen in Form von Entzündungserscheinungen äußert. Sie findet in Abwesenheit von Serumantikörpern statt und ist nur durch Lymphozyten übertragbar (45, 92).

Durch orale Applikation von Vitamin A-Palmitat und Vitamin A-Säure wurde bei Meerschweinchen die allergische Reaktion vom verzögerten Typ gegenüber Diphtherie-Toxin (146) bzw. Schilddrüsenextrakt (81) unterdrückt. Gleichzeitig waren die Phagozytoseaktivität des RES und das Antikörperbildungsvermögen der Tiere nicht verändert (146), so daß andere durch Vitamin A steuerbare Reaktionen als Ursache für seine hemmende Wirkung auf

die Ausbildung der Allergie vom verzögerten Typ in Erwägung gezogen wurden. In Kapitel 2.2.1 wird ausführlich auf den Einfluß von Vitamin A auf die Aktivität des lymphatischen Gewebes eingegangen. Der Befund, daß zusätzliche Applikation von Vitamin A die Proliferation lymphoider Zellen stimuliert, steht im Gegensatz zu seiner hemmenden Wirkung auf die allergische Reaktion vom verzögerten Typ. Das Vitamin scheint demnach diese zellvermittelte Immunreaktion nicht über eine Wirkung auf deren Mediatoren, die Lymphozyten, zu beeinflussen.

Subcutane Injektionen von isolierten Lysosomen induzierten nachweislich unspezifische Entzündungsreaktionen in der Haut, die wahrscheinlich auf die Wirkung lysosomaler Enzyme zurückzuführen sind (50). Vitamin A vermindert den Gehalt an lysosomalen Enzymen in Leukozyten (80) und könnte somit über diesen Mechanismus die Entzündungsreaktion im Gewebe inhibieren (146).

Heilmeyer und Mitarbeiter (63) stellten fest, daß die Haut von Kaninchen nach Verabreichung hoher Dosen Vitamin A-Palmitat vermindert auf die lokale Injektion bakterieller Endotoxine reagierte, d.h. die Flächenausdehnung der Erytheme war bei den Vitamin A-Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren verringert.

Ob die Entzündungshemmung durch Vitamin A überwiegend Folge seiner Wirkung auf die Lysosomen ist, oder ob sie seiner inhibitorischen Wirkung auf einzelne Mediatorstoffe der Entzündung (Histamin, Serotonin, Bradykinin) zuzuschreiben ist (79), kann auf Grund der bisherigen Befunde noch nicht entschieden werden.

2.1.2.1.2 Transplantatabstoßung

Die Fähigkeit des Empfängers, auf Transplantatantigene zu reagieren, wird den mononukleären Zellen (Lymphozyten und Makrophagen) des lymphatischen Gewebes zugeschrieben (62). Antikörper haben wahrscheinlich eine unterstützende Wirkung und beschleunigen somit die Transplantatabstoßung. Es gibt jedoch bis heute keinen Anhalt dafür, daß sie die dominierende Rolle bei diesem Vorgang spielen (72).

Nelken und Mitarbeiter (113) führten Auto- und Homotransplantationsversuche an Kaninchen durch, denen parenteral hohe Dosen Vitamin A-Palmitat zugeführt worden waren. Während die Kontrollgruppen die Autotransplantate annahmen, die Homotransplantate jedoch spätestens am 13. Tag post operationem abgestoßen hatten, wurden in den Versuchsgruppen die Autotransplantate 10 - 15, die Homotransplantate 7 - 9 Tage nach der Operation abgestoßen.

Transplantate männlichen Hautgewebes wurden von weiblichen Tieren, denen 4 Tage lang vor bzw. nach der Operation Vitamin A-Palmitat zugeführt worden war, im Vergleich zu den Kontrolltieren signifikant rascher abgestoßen (82).

Möglicherweise beschleunigt Vitamin A die Transplantatabstoßung, indem es die Proliferation der Lymphozyten stimuliert (s.2.2.1). Daneben wird die durch Vitamin A induzierte Freisetzung proteolytischer lysosomaler Enzyme mit dem Einfluß des Vitamins auf die Transplantatabstoßung in Verbindung gebracht (121).

Auch weisen Ergebnisse experimenteller Untersuchungen darauf hin, daß Vitamin A die Vaskularisierung der Transplantate beeinträchtigt (113).

2.1.2.2 Humorales Immunsystem

Die humorale Immunität beruht auf der Bildung von Antikörpern, die spezifisch gegen antigene Determinanten gerichtet sind. Die Produzenten dieser humoralen Eiweißkörper sind nach heutiger Ansicht die Plasmazellen (73).

2.1.2.2.1 "Normal"-Antikörper

Als "natürliche" oder "Normal"-Antikörper werden spezifische, im Blut kreisende Globuline bezeichnet, die ohne nachweisbare vorausgegangene Immunisierung entstanden sind. Ihre Entstehungsursachen sind noch nicht geklärt und eine Abgrenzung zu Immun-Antikörpern ist nur schwer möglich, da ein vorheriger Kontakt mit dem entsprechenden (oder kreuzreagierenden) Antigen nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann (71).

Vitamin A-arm ernährte Kaninchen unterschieden sich in ihrem "Normal"-Hämolysintiter gegen Schaf- und Rindererythrozyten nicht von den Kontrolltieren, während die Immun-Hämolysine bei den Mangeltieren deutlich vermindert waren (51).

2.1.2.2.2 Immunglobuline

Als Immunglobuline werden alle im Blut kreisende Proteine mit Antikörper-Eigenschaften bezeichnet, die sich nach Kontakt mit einem Antigen spezifisch gegen dieses gebildet haben. Sie sind an die μ -Globulinfraktion des Serums gebunden.

In Tabelle 4 und 5 sind die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen über den Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung zusammengefaßt. Neben Daten über die Vitamin A-Versorgung sind Spezies, Art des Antigens, Zeitpunkt der Antigenapplikation sowie das Antikörperbestimmungsverfahren aufgeführt.

(In den Tabellen ist ein negativer bzw. positiver Einfluß eines Vitamin A-Mangels oder zusätzlichen Vitamin A-Angebots auf die Antikörperbildung gleichbedeutend mit einer Verminderung bzw. Steigerung der Immunantwort).

2.1.2.2.1 Besprechung der Literaturbefunde

Wie aus den Tabellen 4 und 5 zu entnehmen ist, weichen die Ergebnisse verschiedener Autoren häufig voneinander ab. Im folgenden soll daher - in Anlehnung an diese Literaturbefunde - auf einige Variable in den jeweiligen Versuchsanordnungen eingegangen werden, die zur Erklärung dieser Diskrepanzen herangezogen werden können.

Tierart

Steinberg und Mitarbeiter (135) untersuchten die Wirkung von insgesamt acht verschiedenen Adjuvantien - Vitamin A war mit einbezogen - auf die Antikörperbildung beim Huhn. Da diese Spezies, im Unterschied zu anderen Tierarten, auf keines der Adjuvantien mit vermehrter Antikörperbildung antwortete, zogen die Autoren die

Tabelle 4

Einfluß eines Vitamin A-Mangels auf die Antikörperbildung

Spezies	Antigen	Zeitpunkt der Antigenapplikation nach Fütterungsbeginn	Antikörper-Bestimmungsverfahren	Einfluß auf Antikörperbildung	Autor
Ratte	Erythrozyten (Mensch)	4 Wochen	HA ¹ - Test	negativ	Ludovici u. Axelrod
Ratte	abgetötete Paratyphuskeime	nicht definiert	HA - Test	negativ	Blackberg
Ratte u. Kaninchen	B.typhosus	7 Tage	HA - Test	kein Effekt	Werkman
Ratte	Diphtherietoxin	nicht definiert	HA - Test	negativ	Axelrod u. Pruzansky
Kaninchen	B.typhosus Erythrozyten (Schaf, Rind)	6 - 8 Wochen	HA - Test	negativ	Greene
Maus	Schweine-Influenza-Virus	4 Wochen	HAH ² - Test	kein Effekt	Underdahl u. Young
Huhn	S.pullorum	4 Wochen	HA - Test	negativ	Panda u. Combs
Schwein	S.pullorum Erythrozyten (Mensch)	nicht definiert	HA - Test	negativ	Harmon et al.
Mensch	Pneumokokken	17 Wochen	Neutralisations-test	kein Effekt	Feller et al.

1 Hämagglutinations-Test

2 Hämagglutinationshemmungs-Test

Tabelle 5

Einfluß oraler und parenteraler Vitamin A-Zufuhr auf die Antikörperbildung

Vitamin A-Versorgung (Dosis und Applikation)	Spezies	Antigen	Zeitlicher Ab- stand der Vita- minapplikation von der Immuni- sierung	Antikörper- bestimmungs- verfahren	Einfluß auf Anti- körper- bildung	Autor
Retinol (2-50mg/Tier, i.p.)	Maus	BSA ¹	1 Stunde a.i. ⁶	ABC-Test ⁴	positiv	Spitznagel u. Allison (133)
Retinol (0,5-10mg/Tier, s.c.)	Maus	BGG ²	1.Tag a.i.	Antigen- Eliminierungs- Test	positiv	Dresser
Vitamin A-Palmitat (10 ⁶ I.E./Tier, i.p.) Retinol (10 ⁶ I.E./Tier, i.m.)	Meerschwein- chen	Bakterio- phage	Tag der Immuni- sierung	Neutralisa- tions-Test	Verzögerung des Anti- körper- Maximums	Uhr et al.(145)
Vitamin A-Säure (80mg/Tier, oral)	Meerschwein- chen	Bakterio- phage	1.-3.Tag a.i.	Neutralisa- tions-Test	kein Effekt	Uhr et al.(146)
Vitamin A-Palmitat (250 I.E./g KG, i.p.)	Maus	Erythro- zyten (Schar)	1.-5.Tag a.i. oder 1.-5.Tag p.i. ⁷	HA ⁵ - Test	positiv	Jurin u. (82) Tannock
Vitamin A-Säure (20-40mg/Tier, oral)	Meerschwein- chen	Schild- drüsen- extrakt	3-5 x/Woche 1.-20.Tag a.i.	Immunofluo- reszenz + HA- Test	negativ	Jansz et al.(81)
"Avoleum" Vit.A-Form? (75.000 I.E./Tier, nicht definiert)	Huhn	HSA ³	2.Tag a.i.- 3.Tag p.i.	ABC-Test	kein Effekt	Steinberg et al.
"Avoleum" Vit.A-Form? (10.000 I.E./Tier, oral)	Maus	131 J-DGG	1.-4.Tag a.i.	Antigen- eliminie- rungs-Test	kein Effekt	Stark (134)

1 Brvins Serumalbumin 2 Bovines Gammaglobulin 3 Human-Serumalbumin 4 Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test

5 Hämagglutinations-Test 6 ante immunisationem 7 post immunisationem

Möglichkeit in Betracht, daß sich beim Huhn die Umwandlung von X-Zellen (Antigen-empfindliche Zellen) in Z-Zellen (antikörperbildende Zellen) durch die Applikation von Adjuvantien nicht beeinflussen läßt.

Im Vitamin A-Mangelzustand hingegen war bei Küken die Antikörperbildung im Vergleich zu Kontrolltieren deutlich beeinträchtigt (119).

Art und Dosierung des Vitamin A

Dem Retinol wird ein stärkerer stimulierender Effekt auf die Antikörperbildung von Mäusen zugeschrieben als der Esterform des Vitamin A (133). Auch nahm die Adjuvanswirkung des Retinols mit steigender Dosierung deutlich zu (31, 133). Durch orale Applikation von Vitamin A-Säure hingegen wurde die Immunantwort des Meerschweinchens im Vergleich zu Kontrolltieren nicht beeinflusst (146) bzw. deutlich beeinträchtigt (81).

Depletion

Nach Verabreichung einer Vitamin A-armen Diät an Labor- und Nutztiere war die Immunglobulinbildung vermindert (6, 14, 51, 60, 97, 119) oder sie blieb unbeeinflusst (147, 156, 172).

Diese Diskrepanz zwischen den Ergebnissen verschiedener Autoren könnte nach Harmon und Mitarbeiter (60) auf die Verwendung unterschiedlicher Diäten, die sich durch ihren Reinheitsgrad und damit Vitamin A-Gehalt unterscheiden, zurückzuführen sein.

Da während einer Vitamin A-Mangel (Depletions) -Periode Futterverwertung und Körpergewichtsentwicklung der Versuchstiere beeinträchtigt sein können, wodurch sich der Nachweis einer spezifischen Vitamin A-Wirkung erschwert, erscheint die Einbeziehung von "paired fed"-Kontrollen (die dieselbe Futtermenge zugeteilt bekommen wie die Versuchstiere) in Vitamin-Mangelversuche angebracht. Dies gilt insbesondere für Untersuchungen mit ausgedehnten Vitamin A-freien Fütterungsperioden. Jedoch kamen Axelrod und Pruzansky (6) nach umfangreichen Literaturstudien zu dem Schluß, daß im allgemeinen keine Korrelation zwischen dem Einfluß eines Vitamin-Mangels auf Immunantwort und Wachstumsrate besteht.

Abstand zwischen Vitamingabe und Immunisierung

Wurde Vitamin A-Palmitat direkt vor oder nach der Immunisierung von Mäusen mit Schaf-Erythrozyten verabreicht, so hob es die Agglutinin-Produktion an. Eine Applikation des Vitamins vom 6. bis 10. Tag post immunisationem (p.i.) hingegen war ohne Wirkung (82).

Immunogenität des Antigens

In Untersuchungen an Meerschweinchen, die mit Bakteriophagen immunisiert wurden, konnte kein Einfluß der VAS auf die Antikörperbildung nachgewiesen werden (146). Spitznagel und Allison (133) führten diesen negativen Befund auf die starke Immunogenität der Bakteriophagen zurück, da möglicherweise die Wirkung eines Adjuvans nach zu starken Antigenstimuli nicht mehr erfaßbar ist.

Dosierung des Antigens

Die Antikörperbildung nahm bei Mäusen mit steigender Antigendosierung (Bovines Serumalbumin, 1 - 100 mg/Tier) deutlich zu. Eine Vorbehandlung der Tiere mit Retinol führte, unabhängig von der verwandten Antigendosis, zu einer Anhebung der Immunantwort. Doch nahm diese Wirkung des Vitamins mit steigender Antigendosierung deutlich ab (133).

In Untersuchungen am Huhn wurde die Antikörperbildung in Abhängigkeit von parenteraler Vitamin A-Zufuhr nach Immunisierung der Tiere mit HSA in Dosierungen zwischen 40 mcg und 50 mg pro Tier überprüft. Ein Adjuvanseffekt des Vitamin A war nach keiner der verwandten Antigen-Dosierungen nachweisbar (135).

Booster

Ein Adjuvanseffekt des Retinol war bei Mäusen während der Primärantwort (Antikörperbildung nach der ersten Immunisierung) deut-

licher ausgeprägt als während der Sekundärantwort (Antikörperbildung nach der Booster-Immunisierung). Dennoch lagen auch nach der Booster-Immunisierung die Antikörpertiter der mit Retinol behandelten Tiere über den Kontrollwerten (133). Demgegenüber wurden beim Huhn weder Primär- noch Sekundärantwort durch parenterale Vitamin A-Zufuhr beeinflusst (135).

Zeitpunkt der Antikörperbestimmung

Am 14. und 21. Tag nach der Immunisierung mit *S. pullorum* wurde bei Küken die Agglutinin-Produktion in Abhängigkeit von ihrer Vitamin A-Versorgung untersucht (119). Während sowohl bei Kontroll- als auch bei Vitamin A-Mangeltieren zwei Wochen nach der Immunisierung höhere Titer gemessen wurden als eine Woche später, waren an beiden Blutentnahmetagen gleichermaßen deutlich die mit Vitamin A versorgten Tiere den Mangeltieren in der Antikörperbildung überlegen. Demgegenüber äußerte sich bei Mäusen die Adjuvanswirkung von Vitamin A-Palmitat mit wachsendem zeitlichen Abstand von der Immunisierung (zwischen 10. und 15. Tag p.i.) zunehmend ausgeprägter (82). (Der Arbeit ist nicht zu entnehmen, welche quantitativen Veränderungen des Antikörpertiters während dieses Zeitraums ermittelt wurden).

Das Maximum der Antikörperbildung war bei Meerschweinchen, die mit Vitamin A-Palmitat oder Retinol behandelt wurden, im Vergleich zu den Kontrolltieren um 5 Tage verschoben. Die Vitamin A-Tiere antworteten mit einer verzögerten Antikörperbildung und wiesen daher am 5. Tag nach der Immunisierung niedrigere, am 10. Tag p.i. jedoch höhere Antikörpertiter als die Kontrolltiere auf (145).

2.1.3 Immunologische Toleranz

Die Eigenschaft des Organismus, gegenüber einem Antigen keine Antikörper zu bilden, bezeichnet man als Immuntoleranz. Früher wurde angenommen, daß sich die immunologische Toleranz auf die Zeit vor oder kurz nach der Geburt beschränkt, da der Immunapparat zu diesem Zeitpunkt noch nicht ausgereift ist (17).

Nach heutiger Ansicht ist die immunologische Toleranz ein Phänomen aller Altersstufen, das von der Art des Antigens, seiner Dosierung sowie der gleichzeitigen Applikation von Adjuvantien abhängig ist (7).

Retinol inhibierte bei Mäusen, denen eine tolerogene Antigen-Dosis injiziert wurde, die Ausbildung der immunologischen Toleranz, d.h. die Tiere antworteten auf den antigenen Reiz mit der Bildung von Immunglobulinen.

Diese Wirkung des Vitamin A wird auf seine Eigenschaft, die Komplementaktivität zu inhibieren, zurückgeführt, da eine Verminderung der Toleranzausbildung unter Vitamin A-Einfluß mit einer Erniedrigung des Serum-Komplementgehaltes einherging (7).

2.2 Mögliche Ursachen für den Einfluß von Vitamin A auf Resistenz- und Immunitätsmechanismen

Den bisherigen Ausführungen ist zu entnehmen, daß Vitamin A Resistenz- und Immunitätsmechanismen beeinflusst. Es wurde bereits kurz auf einige mögliche Ursachen für die immunologische Wirksamkeit des Vitamins eingegangen.

Der folgende Teil befaßt sich mit den bedeutendsten Vitamin A-abhängigen Mechanismen biologischer und biochemischer Art, welche in engster Relation zu der immunologischen Aktivität des Vitamins stehen.

2.2.1 Membraneffekt

Vitamin A spielt für die Funktion biologischer Membranen eine wichtige Rolle. Unter biologischen Membranen sollen im folgenden die äußere Zellmembran, Membranen des endoplasmatischen Retikulums, der Mitochondrien und Lysosomen, nicht aber extrazelluläre Membranen, wie z.B. die Basalmembran, verstanden werden. An ihrem

Aufbau sind Lipide und Proteine in einem für die jeweilige Membran charakteristischen Verhältnis beteiligt.

Vitamin A verändert auf Grund seiner hohen Lipidlöslichkeit Struktur und Funktion biologischer Membranen. Die Initialwirkung des Vitamins, kurz nach seiner Penetration in die Lipidschichten der Membran, äußert sich in einer Oberflächenvergrößerung der Lipidfilme.

Vitamin A₁-Alkohol war in seiner detergierenden Wirkung dem Vitamin A₂-Alkohol, der Säure- und den Esterformen des Vitamins deutlich überlegen (8).

Während alle untersuchten Membranen unter dem Einfluß hoher Vitamin A-Konzentrationen einen Stabilitätsverlust erlitten, konnte eine Vergrößerung der Membranoberfläche nur bei Erythrozyten (49), Fibroblasten (30) und Mitochondrien (96, 150), nicht hingegen bei Lysosomen (29) beobachtet werden. Die Membranalabilisierung wurde am stärksten durch die Alkoholform (Retinol) des Vitamin A induziert (28, 96).

Auch ein Unterangebot an Vitamin A führte zu einem Stabilitätsverlust der Erythrozyten - (95) und Lysosomenmembran (125). Hier konnte nach einer Verabreichung von Retinol, Retinal oder Vitamin A-Säure in niedriger Konzentration die Funktionstüchtigkeit der Membranen wieder hergestellt werden (95). Vitamin A scheint in niedrigen Dosierungen seine protektive Membranwirkung zu entfalten, indem es Lipid- und Proteinmoleküle miteinander verknüpft (94, 95).

In immunologischer Hinsicht spielt der Einfluß von Vitamin A auf die Lysosomenmembran die größte Rolle.

Lysosomen wurden 1955 von de Duve entdeckt (24). Sie stellen intrazelluläre Granula dar, die von einer Lipoproteinmembran umgeben sind und einen auffallend hohen Gehalt an Hydrolasen aufweisen. Das Zusammenspiel zwischen Vitamin A und Lysosomen, seine Bedeutung für die Entwicklung von Resistenz- und Immunitätsmechanismen sind komplexer Natur und werden in den folgenden Ausführungen kurz dargestellt.

Vitamin A scheint den Eintritt des Antigens in das Innere immunologisch aktiver Zellen zu beschleunigen (145).

Im einzelnen spielen sich dabei in den Makrophagen folgende Vorgänge ab (25, 116, 139):

Vakuolen der Makrophagen nehmen das Antigen nahe der Zelloberfläche auf und verschmelzen anschließend mit den Lysosomen zu einer neuen Einheit, den "Phagolysosomen" (116, 138).

Diese Vorgänge und die anschließende Freisetzung lysosomaler Enzyme mit proteolytischer Wirkung laufen unter Vitamin A-Einfluß beschleunigt ab (25, 27, 37, 38, 80, 155).

Die Bedeutung der Makrophagenlysosomen für die Phagozytose liegt demnach in ihrer Eigenschaft, Antigene aufzunehmen, sie zu speichern und mittels hydrolytischer Enzyme in Fraktionen mit starker Immunogenität zu spalten, welche anschließend zu den antikörperbildenden Plasmazellen transportiert werden (145).

Da der lysosomale Abbau des Antigens in der Regel Voraussetzung für die Antikörperbildung ist (126, 145), ließe sich ein positiver Einfluß von Vitamin A auf die Immunglobulinsynthese indirekt über die Stimulierung der Phagozytose erklären.

Doch scheint Vitamin A auch einen direkten Einfluß auf die Vermehrung und Transformation der Lymphozyten auszuüben, die Vorläufer der antikörperbildenden Plasmazellen sind und außerdem an der Ausbildung zellvermittelter Immunreaktionen beteiligt sind. Eine positive Korrelation zwischen Lymphozytenzahl und Antikörperbildungskapazität eines Organismus ist jedoch nicht ausnahmslos gegeben (6, 77, 148).

Nach parenteraler Applikation von Retinol in Dosierungen, die eine deutliche Adjuvanswirkung gezeigt hatten (31), waren die Popliteallymphknoten bei Mäusen im Vergleich zu den Kontrolltieren vergrößert. Das histologische Bild zeigte eine vermehrte Zellinfiltration mit Plasma- und Blastzellen, außerdem eine Anhäufung von Keimzentren in der Rindenregion (140).

In Vitamin A-Mangelversuchen wurden bei Ratten und Hühnern eine Hypoplasie des lymphatischen Gewebes und eine Abnahme der Lymphozytenzahl im Blut beobachtet (10, 35, 119, 144). Demgegenüber zeigten während einer A-Hypovitaminose die lymphatischen Organe von Ratten (41) und das lymphozytäre Blutbild von Kaninchen (51) keine Abweichungen von der Norm.

Vitamin A scheint wiederum über den Mechanismus der Labilisierung lysosomaler Membranen die Aktivität des lymphatischen Systems zu beeinflussen: Eine erhöhte Permeabilität der Lysosomenmembran mit anschließender Freisetzung lysosomaler Enzyme leitet erwiesenermaßen die Zellteilung ein (2).

Die Mitoserate von Hühnerfibroblasten konnte in vitro durch Anreicherung des Mediums mit Vitamin A gesteigert werden (89).

2.2.2 Proteinsynthese

Das Serum μ -Globulin^x ist nach heutiger Ansicht kein direkter Vorläufer des Antikörperglobulins^{xx}, da das Antikörperprotein de novo aus Aminosäuren gebildet wird (52, 129). Auch ist umstritten, ob der Gesamtproteingehalt im Serum die Antikörperbildungskapazität eines Organismus widerspiegelt. Während beim Schwein eine positive Korrelation zwischen Antikörpertiter und Proteinkonzentration im Serum bestand (48, 60), war beim Huhn keine Beziehung zwischen beiden Werten gegeben (65).

Es ist ersichtlich, daß die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen über den Einfluß von Vitamin A auf den Gesamtprotein Spiegel bzw. seine Einzelkomponenten nur unter Vorbehalt zur Erklärung seiner Wirkung auf die Immunglobulinsynthese herangezogen werden können. Auf entsprechende Veröffentlichungen soll daher nur kurz eingegangen werden:

Übereinstimmend wurde in Vitamin A-Mangelversuchen über eine Abnahme des Serum-Albumins und kompensatorisch dazu über eine Zunahme des α - und μ -Globulins berichtet, während die Gesamtproteinkonzentration im Serum unverändert blieb (34, 43, 60).

Von größter immunologischer Bedeutung ist der Einfluß von Vitamin A auf die Nucleinsäuresynthese, da die Bildung von Antikörperprotein und die Vermehrung immunkompetenter Zellen von dem Nucleinsäureangebot abhängig sind.

x) Gesamt- μ -Globulin-Fraktion im Serum

xx) Spezifisch gegen ein Antigen gerichtetes Immunglobulin

Bei Vitamin A-arm ernährten Ratten sank der Nucleinsäuregehalt in allen Organen, mit Ausnahme von Leber und Milz, deutlich ab (44, 114). Umgekehrt führte eine parenterale Applikation von Vitamin A-Palmitat an konventionell ernährte Ratten zu einem Anstieg der Nucleinsäurekonzentration in den Organen (114).

Nach den Ausführungen dieses Kapitels scheint das Vitamin A primär über die Labilisierung lysosomaler Membranen sowie die Steigerung der Nucleinsäuresynthese die Immunglobulinbildung des Organismus zu beeinflussen.

Während bei Mäusen die Immunantwort durch parenterale Applikation von Retinol oder Vitamin A-Ester angehoben werden konnte (8.2.1.2.2.2), wurde die Antikörperbildung des Huhnes nach Steinberg et al. (135) durch parenterale Vitamin A-Ester-Zufuhr nicht beeinflusst. Das Vitamin A wurde in ihren Versuchen nur über einen Zeitraum von 5 Tagen und lediglich in einer Dosierung verabreicht, so daß uns ausgedehntere Untersuchungen über die immunologische Wirksamkeit des Vitamin A bei dieser Spezies angebracht erschienen.

In vorliegender Arbeit sollte die Antikörperbildung des Kükens in Abhängigkeit von seiner Vitamin A-Versorgung unter Einbeziehung verschiedener immunologischer Fragestellungen untersucht werden.

3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

3.1 Methodik

3.1.1 Tiermaterial

In allen Versuchen wurden männliche HNL^x-Küken verwandt, die als Eintagsküken vom "Gut Heinrichsruh" bei Moosburg bezogen worden waren.

3.1.2 Haltung der Versuchstiere

Die insgesamt 1039 Küken wurden auf 48 Käfige (20 - 22 Tiere pro Käfig) verteilt. Die Käfige mit den Tieren einer Versuchsgruppe wurden möglichst gleichmäßig im Raum verteilt, um unterschiedliche Umweltbedingungen innerhalb des Stalls zu berücksichtigen. Die Stalltemperatur betrug in der 1. Lebenswoche der Küken $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ und wurde dann um $2 - 4^{\circ}\text{C}$ pro Woche herabgesetzt. Ab der 4. Woche lag sie bei $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Der Raum blieb Tag und Nacht beleuchtet.

3.1.3 Versuchsdiäten

In den einzelnen Versuchen wurden fünf Diäten mit unterschiedlichen Vitamin A(VA)- bzw. Vitamin A-Säure (VAS)-Konzentrationen (jeweils pro kg Futter) verwandt:

- | | |
|--|---|
| a) Basaldiät ohne VA- und VAS-Zusatz | = VA- und VAS-arme Diät |
| b) 3 000 I.E. (900 mcg) VA | = niedrige Vitamin A-Diät (NVA-Diät) |
| c) 30 000 I.E. (9 000 mcg) VA | = hohe Vitamin A-Diät (HVA-Diät) |
| d) 1 450 mcg VAS ($\hat{=}$ 3 000 I.E. VA bei einer relativen biologischen Wirksamkeit der VAS von 65 % (68)) | = niedrige Vitamin A-Säure-Diät (NVAS-Diät) |
| e) 14 500 mcg VAS ($\hat{=}$ 30 000 I.E. VA bei einer relativen biologischen Wirksamkeit der VAS von 65 %) | = hohe Vitamin A-Säure-Diät (HVAS-Diät) |

^xHeisdorf-Nelson-Lohmann

Im Vergleich zu einem Vitamin A-Gehalt von ca. 10 000 I.E./kg im handelsüblichen Kükenaufzuchtfutter lag die VA-Konzentration der NVA- und NVAS-Diät im suboptimalen Bereich, während die HVA- und HVAS-Diät Vitamin A im Überschuß enthielten.

Die Zusammensetzung der VA- und VAS-armen Basaldiät ist in den Tabellen 6 und 7 wiedergegeben. Diese wurde in Anlehnung an eine Diät, die in Vitamin A-Mangelversuchen bei der Wachtel erarbeitet wurde und sich als relativ Vitamin A-arm erwiesen hatte (69a), für das Kükens modifiziert. Die vier weiteren Diäten wurden aus der Basalration durch entsprechende Anreicherung der Vitaminvormischung mit Vitamin A⁺- bzw. Vitamin A-Säure⁺⁺-Konzentrat hergestellt. Jede Futtermischung wurde zur Kontrolle auf ihren VA- und VAS-Gehalt überprüft (55, 173)⁺⁺⁺.

Tabelle 6

VA- und VAS-arme Basal-Diät, Zusammensetzung in %

Weizenschrot (feingemahlen)	61,0
Sojaschrot (50 % Rohprotein)	28,0
Soja-Öl	7,0
di-Calciumphosphat ($\text{CaHPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$)	2,0
Calciumcarbonat (CaCO_3)	1,0
Kochsalz (NaCl)	0,3
Vitaminvormischung (s.Tabelle 7)	0,7

+ Gelatine-stabilisiertes Vitamin A-Azetat (Trockenkonzentrat), Merck, Darmstadt, Nr. 501003

++ Gelatine-stabilisiertes VAS-Trockenkonzentrat der Firma Hoffmann - La Roche, Grenzach, Kontroll Nr. Ro 01-5488/056 F

+++Die Untersuchungen wurden freundlicherweise von Frau Kreuzberg aus dem Institut für Tierphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München durchgeführt

Tabelle 7

Vitaminvormischung auf Maisstärke, enthält in 7 g
(für 1 kg Basal-Diät):

Vitamin D ₃	1 000	I.E.
Vitamin E	150,0	mg
Vitamin K ₃	2,0	mg
Vitamin B ₁	4,0	mg
Vitamin B ₂	6,0	mg
Vitamin B ₆	3,0	mg
Vitamin B ₁₂	20,0	mg
Ca-Pantotheat	10,0	mg
Nikotinsäure	30,0	mg
Folsäure	1,0	mg
Biotin	0,2	mg
KJ	0,5	mg
DL-Methionin	1,36	g

Spurenelemente
(als Sulfate):

Fe	36 mg
Mn	58 mg
Zn	28 mg
Cu	5 mg

3.1.4 Fütterung

Die Hälfte aller Tiere wurde vom 1. - 17. Lebenstag mit der VA- und VAS-armen Diät gefüttert. Während dieser Periode der Vitamin A-Verarmung (Depletionsperiode) sollten die Küken ihre vom Eidotter stammenden VA-Reserven aufzehren. Am 17. Lebenstag, als ca. 5 % aller Tiere VA-Mangelsymptome (Ataxien) zeigten, wurden sie in 4 Gruppen unterteilt und auf die NVA-, HVA-, NVAS- bzw. HVAS-Diät umgestellt (NVA^d-, HVA^d-, NVAS^d-, HVAS^d-Gruppe).

+d = depletiert

Die andere Hälfte der Tiere wurde schon am 1. Lebenstag in 4 Gruppen eingeteilt und mit den entsprechenden VA- bzw. VAS-Rationen versorgt (NVA-, HVA-, NVAS-, HVAS-Gruppe). Futter und Wasser standen den Tieren ad libitum zur Verfügung. In Abbildung 1 sind die einzelnen Fütterungsgruppen schematisch dargestellt.

3.1.5 Bestimmung der Mortalitätsrate

Die Mortalitätsrate der Tiere aus Versuch 1 (s. Tab. 8 S. 30) wurde bis zum Zeitpunkt der Herzpunktion (letzter Versuchstag) bestimmt. In den Versuchen 3 und 4, deren Tiere aus Versuch 1 stammten, wurden die Mortalitätsraten in Fortsetzung zu Versuch 1 nicht mehr berechnet, da anschließende Verluste u.U. durch die Herzpunktion bedingt waren.

In Versuch 2 konnte die Mortalitätsrate der einzelnen Gruppen während eines Zeitraumes von 9 Wochen, d.h. bis zum Versuchsende, bestimmt werden.

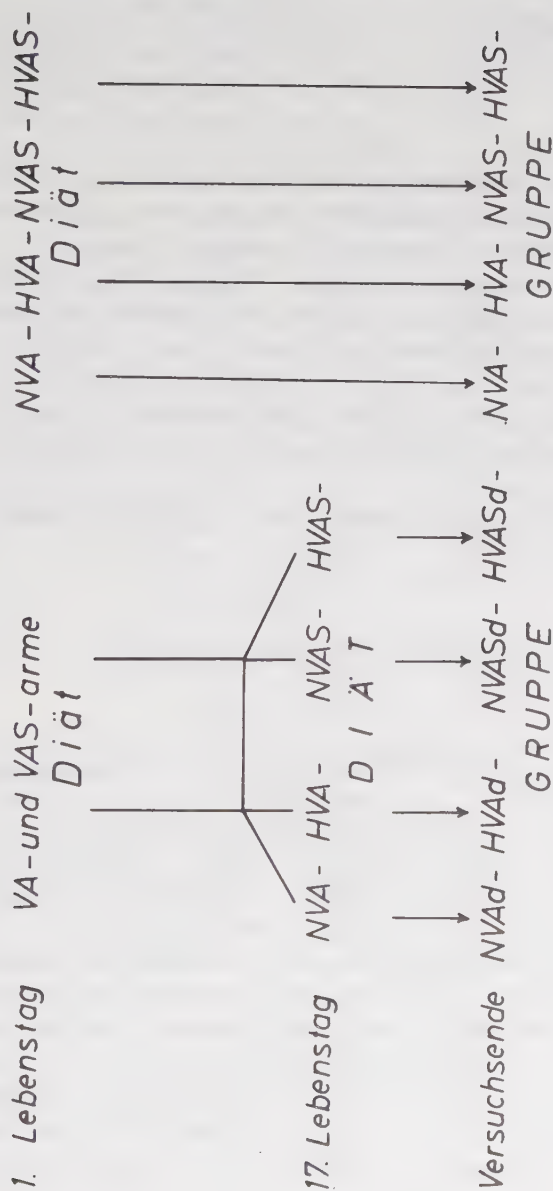
3.1.6 Immunisierung der Tiere

Um den Einfluß verschiedener VA- bzw. VAS-Konzentrationen in der Diät auf die Antikörperbildung zu überprüfen, wurden die Tiere mit Human-Serumalbumin (HSA) in 1 %iger Lösung intraperitoneal (i.p.) immunisiert. Die Immunreaktion der acht verschiedenen Fütterungsgruppen (s. 3.1.4) wurde in 4 Versuchen nach unterschiedlichen Fütterungsperioden unter Einbeziehung immunologischer Variablen in der Versuchsanordnung überprüft.

In Versuch 1 und 2 wurden die Küken im Alter von 4 (Versuch 1) und 8 Wochen (Versuch 2) mit 70 mg HSA/kg Körpergewicht immunisiert. Diese Dosis hatte in Vorversuchen die Antikörperbildung optimal stimuliert.

Jeweils die Hälfte der im Versuch 1 im Alter von 4 Wochen zum ersten Mal immunisierten Tiere jeder Fütterungsgruppe erhielt im Alter von 8 Wochen eine 2. Injektion (Booster-Injektion) von 70 mg (Versuch 3) bzw. 40 mg (Versuch 4) HSA/kg Körpergewicht.

Schematische Darstellung der Fütterungsgruppen



NVA-Diät (niedrige Vit. A-Diät) : 900 mcg Vit. A/kg

HVA-Diät. (hohe Vit. A-Diät) : 9000 mcg Vit. A/kg

NVAS-Diät (niedrige Vit. A-Säure-Diät): 1.450 mcg VAS/kg

Die Immunisierungsdaten der Versuche 1 - 4 sind in Tabelle 8 zusammengefaßt dargestellt.

3.1.7 Blutentnahme

In Vorversuchen war ein Maximum der Antikörperbildung am 8. Tag p.i. ermittelt worden. Bereits 4 Tage später fiel der Titer wieder ab. Den Tieren aus Versuch 1 (s. Tabelle 8) wurden am 8. Tag p.i. ca. 2 ml Blut mittels Herzpunktion entnommen. In Versuch 4 wurden die Tiere am 8. Tag p.i. betäubt und das Blut nach Eröffnung der Vena jugularis aufgefangen. Den Tieren aus Versuch 2 und 3 wurde das Blut am 8. Tag p.i. aus der Flügelvene und am 12. Tag p.i. aus der Vena jugularis nach Betäubung der Tiere entnommen. Zur Serumgewinnung wurde das Blut 15 Minuten lang bei 5 000 xg zentrifugiert.

In Tabelle 8 sind die Blutentnahmedaten der 4 Versuche zusammengefaßt dargestellt.

Tabelle 8

Überblick über Immunisierungs- und Blutentnahme-Daten der Versuche 1 - 4

Versuch Nr.	Immunisierungsalter (Wochen)		Antigen-Dosis (mg HSA/kg KG)		Blutentnahme (Tag p.i.)	
	1. Immuni- sierung	2. Immuni- sierung	1. Immuni- sierung	2. Immuni- sierung	1. Immuni- sierung	2. Immuni- sierung
1	4		70		8	
2	8		70		8+12	
3	4	8	70	70		8+12
4	4	8	70	40		8

3.1.8 Radioimmunologische Antikörperbestimmung

3.1.8.1 Markierung des HSA mit ^{125}J

Das Antigen wurde nach einer Methode von McConahey und Dixon (104) mit ^{125}J markiert. Es handelt sich hierbei um eine Modifikation des Oxydationsverfahrens mit Chloramin - T (75).

Eine schematische Darstellung der Methode ist in Abb.2 wiedergegeben.

5 mCi $^{125}\text{J}^+$ wurden mit 0,25 ml 0,5 m Phosphatpuffer pH 7 verdünnt und tropfenweise zu 2 mg HSA in 2 ml 0,05 m Phosphatpuffer pH 7 gegeben. Mit 100 mcg Chloramin - T (Merck Nr.6526) in 0,5 ml 0,05 m Phosphatpuffer pH 7 erfolgte anschließend die Oxydation des Jodids. 5 Minuten später wurde dieser Vorgang durch Zugabe von 100 mcg Natriummetabisulfit (Merck Nr.6528) in 0,5 ml 0,05 m Phosphatpuffer pH 7 gestoppt. 0,5 mg KJ in 0,5 ml 0,05 m Phosphatpuffer pH 7 dienten als "Carrier" für das freie, nicht an Protein gebundene Jod. Während der Jodinierung des HSA wurden folgende Aktivitätsmessungen im NaJ-Bohrloch (Fa.Frieseke & Höpfner, München) vorgenommen:

- Impulszahl 1 : 5 mCi ^{125}J in Ampulle vor der Markierung
- Impulszahl 2 : Jod-Protein-Gemisch
- Impulszahl 3 : Restaktivität in leerer Jod-Ampulle
- Impulszahl 4 : Restaktivität in Pipette, die zum Überführen des ^{125}J verwandt worden war

3.1.8.2 Filtration des ^{125}J -HSA an Sephadex G-50

Die Trennung des freien vom proteingebundenen Jod erfolgte über eine Gelfiltration an Sephadex G-50.

7 g Sephadex G-50 (Pharmacia, Uppsala) wurden in 250 ml aqua dest. aufgeschwemmt. Ca. 24 Stunden später wurden die flüssige Phase abgenutscht und das Gel in ca. 250 ml 0,07 m Veronal-Puffer pH 8,6 (Barbital-Natrium, Merck Nr. 6138) suspendiert. Der Puffer wurde 2 Tage lang mehrmals täglich erneuert. Anschließend wurde das Gel blasenfrei in eine am unteren Ende mit Glaswolle (ca. 1 cm hoch) verstopfte Bürette (50 x 1,5 cm) gefüllt. Nachdem sich eine ca. 40 cm hohe Gelschicht abgesetzt hatte, wurde die Säule mit 50 ml 0,07 m Veronal-Puffer pH 8,6 gewaschen.

*NaJ zur Eiweißmarkierung, Fa.Hoechst, Nr.J5006

SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER
MARKIERUNG VON HUMAN-SERUM-ALBUMIN (HSA)
MIT ^{125}J

2 mg HSA + 5m Ci ^{125}J

+ 100 mcg Chloramin-T (Oxydationsmittel)

↓
Jod - Tyrosin

+ 100 mcg Natriummetabisulfit (Reduktionsmittel)

+ 0,5 mg KJ (Carrier)

Sephadex G-50

↙
freies Jod

↘
HSA markiert

↙
Bestimmung
des freien
J

↘
Quantitative HSA-
Bestimmung

(Berechnung der spezifischen
Aktivität des HSA,
der Atome Jod/Molekül HSA
und der proteingebundenen
Radioaktivität in %)

Das unter 3.1.8.1 beschriebene Jod-Proteingemisch wurde auf die Sephadex-Säule gegeben und mit 0,07 M Veronal-Puffer pH 8,6 eluiert. Die Protein-Jod-Fractionen (1.Peak) und die Jod-Fractionen (2.Peak) wurden in Plastikröhrchen zu je 1 ml aufgefangen und im γ -Zähler gemessen.

Die Protein-Jod-Fractionen mit hoher spezifischer Aktivität (Impulszahl $\gg$ 5 000) wurden gesammelt und im Pool den in den folgenden Kapiteln beschriebenen Überprüfungen unterzogen.

3.1.8.3 Überprüfung des ^{125}J -HSA

3.1.8.3.1 Quantitative HSA-Bestimmung

Die ^{125}J -HSA-Konzentration des Eluates (s.3.1.8.2) wurde nach der Methode von Lowry, Rosenbrough, Farr und Randall (93), abgeändert nach Miller (111), bestimmt.

Dazu wurden folgende Reagenzien benötigt:

Reagens 1 - alkalisches Kupferreagens:

10 Teile 10 %iges Natriumcarbonat in 0,5 N NaOH und
1 Teil 0,5 %iges Kupfersulfat in 1 %igem Kaliumtartrat

Reagens 2 - Folin-Ciocalteus-Phenolreagens (Merck Nr.9001),

1 : 11 verdünnt

1 ml des Eluates wurde mit 1 ml Reagens 1 versetzt und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur (22°C) inkubiert. Anschließend wurden 3 ml Reagens 2 zugesetzt und erneut ca. 15 Minuten lang bei 50°C inkubiert. Nach dem Abkühlen der Lösung auf ca. 20°C wurde die Extinktion mit dem Colorimeter (Elko II, Firma Zeiss, Filter S 59 E61) bei einer Wellenlänge von 540 - 570 nm gegen einen Blindwert gemessen.

Anhand einer für HSA aufgestellten Eichkurve konnte anschließend der ^{125}J -HSA-Gehalt des Eluates ermittelt werden.

3.1.8.3.2 Bestimmung des freien ^{125}J

Um den prozentualen Anteil des freien, nicht an HSA gebundenen ^{125}J im Eluat (s.3.1.8.2) zu ermitteln, wurde die proteingebundene

Aktivität mit 20 %iger Trichloressigsäure gefällt und abzentrifugiert. Die Aktivität des Überstandes in Prozent der Gesamtkaktivität im Ansatz entspricht dem freien ^{125}J (36).

Im einzelnen wurde wie folgt vorgegangen:

0,25 ml des Eluates wurden mit 0,25 ml verdünnten Normal-Serums (s.3.1.8.4.1) und 0,5 ml 20 %iger Trichloressigsäure (Merck Nr. 807) versetzt. Nach Messung der Gesamtkaktivität dieses Ansatzes wurden der Proteinniederschlag bei 10 000 xg abzentrifugiert und die Aktivität des Überstandes bestimmt.

3.1.8.3.3 Bestimmung des denaturierten HSA-Anteils

Ein Teil der Antigen-Moleküle kann unter Umständen während der Jodierung denaturiert, d.h. aggregiert werden (74). Unter Berücksichtigung der Löslichkeit des nativen bzw. Unlöslichkeit des denaturierten ^{125}J -HSA in 50 %iger Ammoniumsulfatlösung läßt sich der denaturierte Anteil des Proteins bestimmen (36):

0,25 ml des Eluates (s.3.1.8.2) wurden mit 0,25 ml verdünnten Normalserums (s.3.1.8.4.1) und 0,5 ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung (s.3.1.8.4.1) versetzt.

Von insgesamt 4 identischen Ansätzen wurden 2 bei 10 000 xg 30 Minuten lang zentrifugiert und anschließend in 0,25 ml des Überstandes die Aktivität (=Restaktivität) im β -Zähler bestimmt. Den restlichen 2 Ansätzen wurden - ohne vorheriges Zentrifugieren - jeweils 0,25 ml entnommen, deren Aktivität (=Gesamtkaktivität) im β -Zähler gemessen wurde. Die Restaktivität in Prozent der Gesamtkaktivität konnte somit errechnet werden.

Ihre Differenz auf 100 entspricht dem denaturierten Anteil des Proteins in Prozent der Gesamtprotein-Konzentration.

3.1.8.3.4 Berechnung der spezifischen Aktivität und der Anzahl Atome ^{125}J pro Molekül HSA

Die für die folgenden Berechnungen benötigten Impulszahlen wurden wie unter 3.1.8.1 angegeben ermittelt.

Da die Jod-Ampulle mit 5 mCi ^{125}J eine andere Strahlendurchlässigkeit-

keit aufwies als die während der Markierung und Filtration des Antigens verwandten Plastikröhrchen, mußte die Impulszahl 1 korrigiert werden. Der Korrekturfaktor K errechnet sich aus der Formel:

$$K = \frac{\text{Impulszahl 2} + \text{Impulszahl 4}}{\text{Impulszahl 1} - \text{Impulszahl 3}}$$

Aus der korrigierten Impulszahl 1 ($\approx 5 \text{ mCi } ^{125}\text{J}$), den Impulszahlen der Proteinfraktionen, sowie deren Gehalt an HSA konnte die spezifische Aktivität des Proteins errechnet werden, die in $\mu\text{Ci/sec}/\mu\text{N HSA}$ ausgedrückt wird.

Aus der spezifischen Aktivität des ^{125}J (8-15 Ci/mg J; Verpackungsangabe) und des HSA wurde die Menge Jod berechnet, die pro Gewichtseinheit HSA gebunden wurde. Daraus ließ sich unter Berücksichtigung des Atomgewichtes von ^{125}J (= 125) und des Molgewichtes von HSA (= 69 000) die Anzahl Atome Jod berechnen, die pro Molekül HSA gebunden wurde.

3.1.8.4 Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test

Der Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test (ABC-Test) (36), modifiziert nach Hammer (59), wurde zur quantitativen Bestimmung humoraler Antikörper verwandt.

3.1.8.4.1 Für den ABC-Test benötigte Reagenzien, Seren und Antigenverdünnungen

0,1 m Boratpuffer pH 8,3 - 8,5

Borsäure (Merck Nr.160)	6,184 g
di-Natriumtetraborat (Merck Nr.6303)	9,536 g
NaCl (Merck Nr.6404)	4,384 g
Aqua dest. ad	1 000 ml

Zusatz von Thimerosal (Schuchardt Nr. TH 060) im Verhältnis 1:10.000

Normal-Serum^x im Verhältnis 1:10 mit Boratpuffer verdünnt (NS 1:10)

Zusatz von Thimerosal im Verhältnis 1:10.000

Normal-Serum^x im Verhältnis 1:100 mit Boratpuffer verdünnt (NS 1:100)

Zusatz von Thimerosal im Verhältnis 1:10.000

^x vom Huhn

Gesättigte Ammoniumsulfatlösung

Ammoniumsulfat (Merck Nr.1217) 423 g

Aqua dest. ad 1 000 ml

mit konzentrierter Ammoniaklösung (Merck Nr. 5432) auf pH 7 eingestellt

Antigen-Lösung

Das Eluat (s.3.1.8.2) wurde im Verhältnis 1 : 0,5 mit NS 1 : 10 verdünnt:

Stammlösung

Die Antigen-Lösung für den ABC-Test enthielt 0,1 N HSA/ml und wurde aus der Stammlösung durch Verdünnen derselben mit Normalserum 1 : 100 hergestellt.

Antiserumverdünnung

Antiserum wurde mit Boratpuffer im Verhältnis 1 : 10 verdünnt. Ausgehend von dieser Verdünnung wurden die weiteren Verdünnungsstufen in Dreierpotenzen mit NS 1 : 10 hergestellt.

Kontroll- und Standardproben

Die Kontroll- und Standardproben enthielten NS 1 : 10

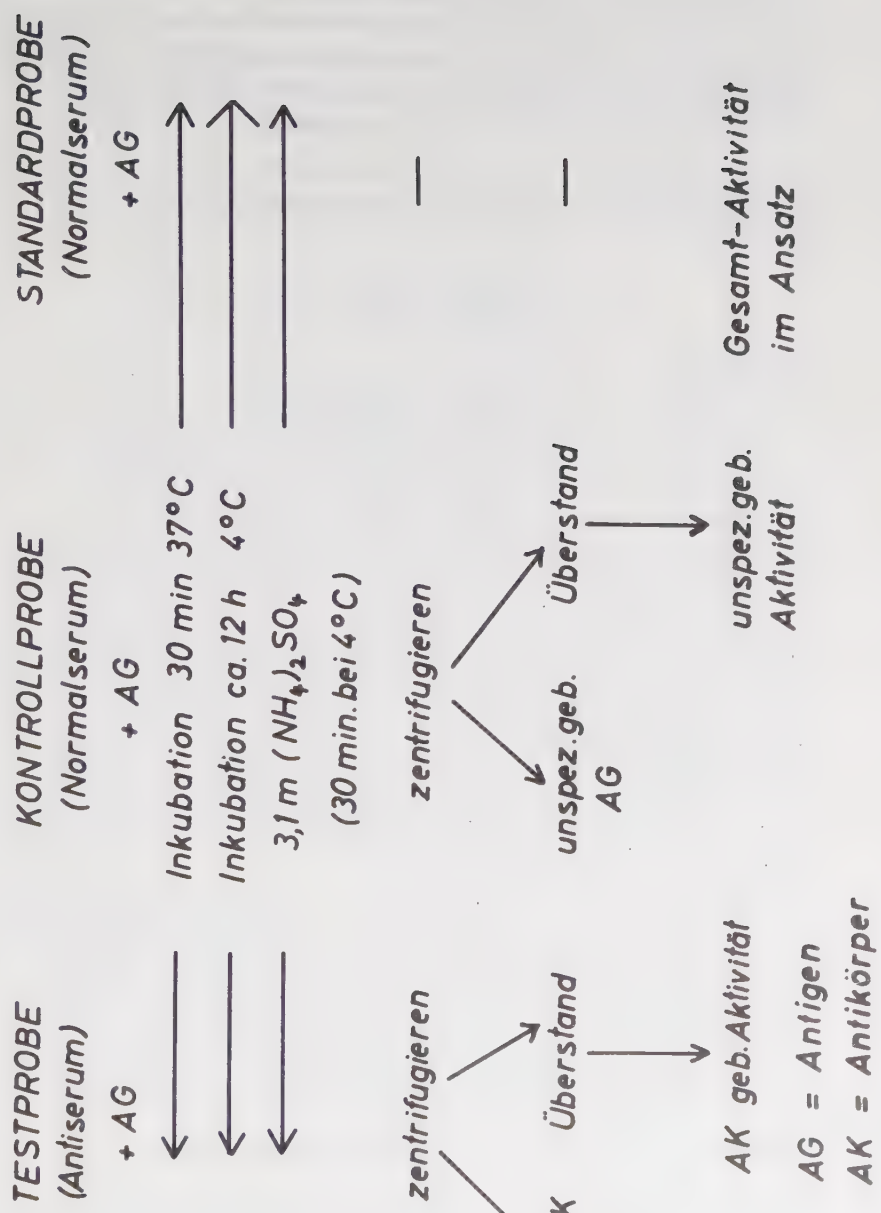
Sämtliche Lösungen wurden bei 4⁰C aufbewahrt.

3.1.8.4.2 Testverfahren

Die Antiserum-, Kontroll- und Standardproben wurden in Plastikzentrifugenröhrchen doppelt angesetzt:

Zu jeweils 0,25 ml der Antiserum-Verdünnungsstufen bzw. Kontroll- und Standardproben wurden 0,25 ml Antigen-Lösung gegeben. Danach wurden alle Proben 30 Minuten lang bei 37⁰C und anschließend über Nacht bei 4⁰C inkubiert. Der Antigen-Antikörperkomplex bzw. das in den Kontrollproben unspezifisch an Normalserum gebundene Antigen wurden nach Zugabe von 0,5 ml gesättigter Ammoniumsulfatlösung unter kräftigem Schütteln ausgefällt. Nach einer Inkubationszeit von 40 Minuten bei 4⁰C wurden die Proben in einer Kühlzentrifuge (4⁰C) bei 10.000 x g 30 Minuten lang zentrifugiert.

Schematische Darstellung des ANTIGEN-BINDUNGS-KAPAZITÄTS-TESTS(ABC-TEST)



Die Radioaktivität von 0,25 ml des Überstandes bei den Antiserum- und Kontrollproben bzw. von 0,25 ml des Gesamtansatzes bei den Standardproben wurde in einem Natriumjodid-Kristallszintillationszähler (Fa. Packard) zwei Minuten lang gemessen. In Abbildung 3 ist das Testverfahren schematisch dargestellt.

Die durch Antikörper gebundene Antigenmenge in Prozent der Antigenkonzentration im Ansatz (AG) wurde durch folgende Formel ermittelt:

$$AG = \frac{H \times (C-E)}{H \times (C-E) + E \times C} \times 100$$

Erläuterung:

H = Impulszahl in 0,25 ml der Standardproben

C = Impulszahl in 0,25 ml des Überstandes der Kontrollproben

E = Impulszahl in 0,25 ml des Überstandes der Antiserumproben

Auf einfachem Logarithmenpapier wurden die durch Antikörper gebundenen Antigenmengen auf die lineare Achse, die entsprechenden reziproken Antiserumverdünnungen auf die logarithmische Achse aufgetragen. Als Bezugspunkt für die Errechnung der Antigen-Bindungs-Kapazität eines Antiserums wurde dessen Verdünnungsstufe ermittelt, bei der 33 % des Antigens durch Antikörper gebunden wurden.

Die Antigen-Bindungs-Kapazität des Antiserums bei einer Antigenkonzentration von 0,1 μ N 125 J-HSA/ml - die ABC-33; 0,1 μ N HSA/ml - wird ausgedrückt in μ N HSA, die von 1 ml unverdünnten Antiserums gebunden wurden. Sie errechnet sich aus folgendem Ansatz:

$$ABC-33; 0,1 \mu N \text{ HSA/ml} = A \times 0,1 \times 0,33$$

A = reziproke Verdünnung, bei der 33 % des Antigens gebunden wurden.

Die Antigenbindungskapazität eines Antiserums wird im folgenden als Antikörpertiter bezeichnet.

3.1.9 Statistische Auswertung¹

Bei den vorliegenden Ergebnissen wurden jeweils die Mittelwerte

¹ Herrn Dr. Osterkorn aus dem Institut für Tierzucht und Vererbungsforschung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München danken wir für die großzügig gewährte Unterstützung bei der statistischen Versuchsauswertung

und ihre Standardabweichungen angegeben. Mit Hilfe des t-Tests (152) und der einfachen Varianzanalyse (152) wurden Unterschiede zwischen den Mittelwerten der einzelnen Fütterungsgruppen auf ihre Signifikanz hin überprüft. In allen Versuchen wurden jeweils Antikörpertiter und Körpergewichte folgender Gruppen miteinander verglichen:

NVA d - Gruppe mit HVA d - Gruppe
NVASd - Gruppe mit HVASd - Gruppe
NVA d - Gruppe mit NVASd - Gruppe
HVA d - Gruppe mit HVASd - Gruppe
NVA d - Gruppe mit NVA - Gruppe
HVA d - Gruppe mit HVA - Gruppe
NVASd - Gruppe mit NVAS - Gruppe
HVASd - Gruppe mit HVAS - Gruppe
NVA - Gruppe mit HVA - Gruppe
NVAS - Gruppe mit HVAS - Gruppe
NVA - Gruppe mit NVAS - Gruppe
HVA - Gruppe mit HVAS - Gruppe

Da die Tiere aus Versuch 1 - 4 zur gleichen Zeit und unter gleichen Fütterungs- und Umweltbedingungen gehalten wurden, sind statistische Vergleiche zwischen identischen Fütterungsgruppen aus verschiedenen Versuchen zulässig. Diese Vergleiche wurden angestellt, um den Einfluß des Alters der Tiere und der verschiedenen Immunisierungsarten auf die Antikörperbildung zu überprüfen. Dazu wurden identische Fütterungsgruppen folgender Versuche miteinander verglichen:

- a) Versuch 1 mit Versuch 2
- b) Versuch 2 mit Versuch 3
- c) Versuch 2 mit Versuch 4
- d) Versuch 3 mit Versuch 4

Um eine Korrelation zwischen Körpergewicht und Antikörpertiter zu überprüfen, wurden die lineare Regressionsfunktion $y = A + B \times X$ und der Pearson-Bravais'sche Korrelationskoeffizient r errechnet (152).

3.1.10 Vitamin A-Bestimmung in der Leber

Von jeweils 10 Tieren verschiedener Fütterungsgruppen aus Versuch 2 und 3 wurden die Lebern im Pool auf ihren Vitamin A-Gehalt untersucht (69)^x.

^xDiese Untersuchungen wurden freundlicherweise von Frau Kreuzberg aus dem Institut für Tierphysiologie der Tierärztlichen Fakultät der Universität München durchgeführt

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Markierung des Antigens mit ^{125}J

Das in den folgenden Versuchen verwandte Eluat mit ^{125}J -HSA hatte einen Proteingehalt von 50,27 mcg HSA/ml. Die spezifische Aktivität des HSA betrug $13,36 \mu\text{Ci}/\text{mcg N HSA}$. Von einem Molekül HSA wurden durchschnittlich 3,84 Atome Jod gebunden. 61 % der für die HSA-Markierung verwandten 5 mCi ^{125}J wurden mit der Proteinfraction eluiert. Der Anteil des freien, nicht an HSA gebundenen ^{125}J in dieser Fraktion betrug 2,5 %. 4,8 % des markierten HSA waren unspezifisch an Normalserum gebunden und wurden durch gesättigte Ammoniumsulfat-Lösung präzipitiert; sie entsprechen dem HSA-Anteil, der während der Protein-Markierung denaturiert worden war (s.3.1.8.3.3).

3.2.2 Versuch 1

3.2.2.1 Versuchsziel

Der Einfluß von VA und VAS auf die Antikörperbildung 4 Wochen alter Kücken, deren Immunsystem noch nicht vollständig ausgereift ist (70, 167, 168), sollte überprüft werden. Dem Versuch lag die Frage nach der Steuerbarkeit des immunologischen Reifungsprozesses durch orale Applikation von VA oder VAS zugrunde.

3.2.2.2 Versuchsanordnung (s.Tabelle 8 S.30)

Die Tiere der 8 verschiedenen Fütterungsgruppen wurden im Alter von 4 Wochen mit 70 mg HSA/kg KG i.p. immunisiert. Die Blutentnahme erfolgte 8 Tage später durch Herzpunktion.

3.2.2.3 Versuchsergebnisse

Folgende Mortalitätsraten wurden innerhalb der ersten 5 Lebenswochen errechnet:

Gruppe	Mortalität (%)
NVA	0,79
NVAS	0,71
HVAS	2,85

Innerhalb der anderen Fütterungsgruppen gab es keine Verluste. Über die Antikörperbildung und Körpergewichte der verschiedenen Gruppen gibt Tabelle 9 Auskunft.

Tabelle 9

Einfluß von VA und VAS auf Antikörperbildung und Körpergewicht
4 Wochen alter Küken (Immunisierung mit 70 mg HSA/kg KG i.p.;
Körpergewicht am Tag der Immunisierung, Antikörpertiter am
8. Tag p.i.)

Fütterungs-Gruppe	Tierzahl (n)	Serum - ABC ¹ (± Standardabweichung)	Körpergewicht* in g (± Standardabweichung)
NVA	40	1,36 ± 0,79	294 ^a ± 35,88
HVA	45	1,58 ± 1,00	298 ^b ± 37,62
NVAS	42	1,5 ± 1,02	292 ± 39,96
HVAS	43	1,40 ± 0,87	278 ^b ± 29,08
NVAd	40	1,49 ± 0,87	277 ^a ± 35,93
HVAd	42	1,16 ± 0,84	287 ± 32,40
NVASd	43	1,63 ± 1,13	275 ± 37,34
HVASd	44	1,24 ± 0,95	275 ± 27,94

*Die Gewichtswerte verschiedener Gruppen, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, unterscheiden sich signifikant (mindestens $p < 0,05$) voneinander

¹ Antigen-Bindungs-Kapazität: ABC - 33; 0,1 μ N ¹²⁵I-HSA/ml

Die Antikörpertiter der einzelnen Gruppen unterschieden sich nicht signifikant. Die Depletionsperiode hatte demnach die Antikörperbildung nicht beeinträchtigt und die verschiedenen VA- und VAS-Rationen zeigten keine unterschiedlichen Wirkungen auf das Immunsystem der Küken.

Ein statistischer Vergleich zwischen den Körpergewichten der einzelnen Gruppen brachte folgende signifikante Ergebnisse:

NVA-Gruppe > NVAd-Gruppe ($p < 0,05$)

HVA-Gruppe > HVAS-Gruppe ($p < 0,01$)

Die Depletionsperiode hatte sich demnach ungünstig auf die Körpergewichtsentwicklung der NVA-Gruppe ausgewirkt. Auch zeigten die mit 30 000 I.E. VA/kg Futter versorgten Küken (HVA-Gruppe) signifikant höhere Werte als die mit äquivalenten Mengen an VAS gefütterten Tiere.

Innerhalb keiner der 8 verschiedenen Gruppen konnte eine Korrelation zwischen Körpergewicht und Antikörpertiter ermittelt werden.

3.2.3 Versuch 2

3.2.3.1 Versuchsziel

Der Einfluß peroraler VA- und VAS-Applikation auf die Antikörperbildung 8 Wochen alter Küken war Gegenstand dieser Untersuchungen. In Abweichung von Versuch 1 wurde die Wirkung dieser Vitamine auf das nahezu vollständig ausgereifte Immunsystem (168) überprüft.

Da die Tiere erst nach Ablauf einer achtwöchigen Fütterungsperiode immunisiert wurden, waren eine deutlicher hervortretende Abhängigkeit zwischen Vitamin-Konzentration in der Diät und Antikörperbildung, außerdem ein geringerer Einfluß der schon 6 Wochen vor der Immunisierung beendeten Depletionsperiode auf die Immunreaktion zu erwarten als im Versuch 1.

In Voruntersuchungen an Küken, die mit 40 bzw. 70 mg HSA/kg KG immunisiert worden waren, fielen die Antikörper-Maximalwerte vom 8. Tag p.i. schon wenige Tage später wieder ab. Um eine Abhängigkeit zwischen VA- bzw. VAS-Versorgung und Antikörperbildung zur

Zeit maximaler und wieder abfallender Antikörperkonzentration im Serum zu überprüfen, wurden in diesem Versuch am 8. und 12. Tag p.i. die Antikörpertiter bestimmt.

3.2.3.2 Versuchsanordnung (s.auch Tabelle 8 S.30)

Die Tiere der 8 verschiedenen Fütterungsgruppen wurden im Alter von 8 Wochen jeweils mit 70 mg HSA/kg KG i.p. immunisiert. Die Blutproben wurden am 8. Tag p.i. aus der Flügelvene und am 12. Tag p.i. durch Schlachtung der Tiere gewonnen.

3.2.3.3 Versuchsergebnisse

Folgende Mortalitätsraten (in %) wurden errechnet:

NVA-Gruppe	:	2,27
HVA-Gruppe	:	2,17

Bei den übrigen Gruppen gab es keine Verluste.

In Tabelle 10 sind die durchschnittlichen Antikörpertiter und Körpergewichte der einzelnen Gruppen aufgeführt.

Die statistische Auswertung dieses Versuchs brachte folgende signifikante Ergebnisse:

a) Antikörpertiter am 8. Tag p.i.

NVA-Gruppe	>	HVA-Gruppe	(p < 0,05)
NVA-Gruppe	>	NVAd-Gruppe	(p < 0,05)
NVASd-Gruppe	>	HVASd-Gruppe	(p < 0,01)

b) Antikörpertiter am 12. Tag p.i.

NVA-Gruppe	>	HVA-Gruppe	(p < 0,05)
NVASd-Gruppe	>	HVASd-Gruppe	(p < 0,05)

c) Körpergewicht am Tag der Immunisierung

HVAS-Gruppe	>	HVASd-Gruppe	(p < 0,01)
NVAd-Gruppe	>	NVASd-Gruppe	(p < 0,001)
HVAd-Gruppe	>	HVASd-Gruppe	(p < 0,001)

Tabelle 10

Einfluß von VA und VAS auf Antikörperbildung und Körpergewicht 8 Wochen alter Küken
(Immunisierung mit 70 mg HSA/kg KG i.p.)

Fütterungs- Gruppe	Tierzahl (n)	Serum - ABC ¹ * (± Standardabweichung) 8. Tag p.i. 12. Tag p.i.		Körpergewicht* in g am Tag der Immunisierung (± Standardabweichung)
NVA	22	5,21 ^{a,b} ± 2,98	2,47 ^d ± 1,39	825 ± 49,73
HVA	20	3,32 ^a ± 2,13	1,67 ^d ± 0,73	826 ± 86,05
NVAS	20	4,62 ± 2,33	1,82 ± 1,13	832 ± 73,64
HVAS	19	4,24 ± 3,77	1,77 ± 1,32	846 ^f ± 86,74
NVAd	21	3,47 ^b ± 1,95	1,75 ± 1,30	831 ^g ± 69,11
HVAd	22	2,96 ± 1,96	1,45 ± 0,99	824 ^h ± 83,95
NVASd	21	4,69 ^c ± 2,30	1,97 ^e ± 1,31	797 ^g ± 66,81
HVASd	22	2,58 ^c ± 1,45	1,12 ^e ± 0,81	763 ^{f,h} ± 64,86

*Die Werte der Antikörpertiter und Körpergewichte verschiedener Gruppen, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, unterscheiden sich signifikant (mindestens $p < 0,05$) voneinander

¹ Antigen-Bindungs-Kapazität: ABC - 33; 0,1 μ N ¹²⁵J-HSA/ml

An beiden Blutentnahmetagen war die NVA-Gruppe der HVA-Gruppe, außerdem die NVASd-Gruppe der HVASd-Gruppe in der Antikörperbildung deutlich überlegen. Demnach wirkte sich die Verabreichung der niedrigen VA- bzw. VAS-Diät an Eintagsküken bzw. Vitamin A-depletierte Tiere deutlich günstiger auf die Aktivität des Immunsystems aus als ein Angebot der Vitamine im Überschuß. Auch konnte, zwar nur am 8. Tag p.i., ein negativer Einfluß der Depletionsperiode auf die Immunglobulinbildung der NVAd-Gruppe nachgewiesen werden.

Vergleiche zwischen den Körpergewichten der einzelnen Gruppen führten zu anderen, den immunologischen Befunden nicht entsprechenden Ergebnissen. Beide VA-Dosierungen hatten eine deutlich günstigere Wirkung auf die Körpergewichtsentwicklung depletierter Tiere als die entsprechenden VAS-Diäten. Außerdem wurde ein wachstumsdepressiver Effekt der Depletionsperiode bei der HVASd-Gruppe ermittelt.

Innerhalb keiner der 8 Fütterungsgruppen war eine Korrelation zwischen Antikörpertiter und Körpergewicht gegeben.

3.2.4 Versuch 3

3.2.4.1 Versuchsziel

Die Ergebnisse experimenteller Untersuchungen einiger Autoren (133) deuten darauf hin, daß manche Adjuvantien die Primärantwort des Immunsystems (Antikörperbildung nach erster Immunisierung) deutlicher zu beeinflussen vermögen als die Sekundärantwort (Antikörperbildung nach 2. Immunisierung oder Boosterreaktion). Daher sollte in diesem Versuch der Einfluß von VA und VAS auf die Antikörperbildung 8 Wochen alter Küken untersucht werden, die - abweichend von Versuch 2 - in diesem Alter zum zweiten Mal immunisiert wurden. Wie in Versuch 2 (s.3.2.3.1) wurden die Antikörpertiter am 8. und 12.Tag p.i. bestimmt.

3.2.4.2 Versuchsanordnung (s.auch Tabelle 8 S. 30)

Alle Tiere wurden im Alter von 4 und 8 Wochen jeweils mit 70 mg HSA/kg KG i.p. immunisiert. Das Blut wurde am 8. Tag nach der zweiten Immunisierung aus der Flügelvene und am 12. Tag p.i. aus der Vena jugularis nach Betäubung der Tiere entnommen.

3.2.4.3 Versuchsergebnisse

Über die Antikörpertiter und Körpergewichte der Gruppen gibt Tabelle 11 Auskunft.

Weder am 8. noch am 12. Tag p.i. konnten zwischen den einzelnen Gruppen statistisch gesicherte Unterschiede in der Immunreaktion ermittelt werden. Demnach hatte die Depletionsperiode die Antikörperbildung nicht beeinflusst. Auch war keine Abhängigkeit der Immunglobulinbildung von der VA- bzw. VAS-Konzentration im Futter gegeben.

Der statistische Vergleich zwischen den Körpergewichten der einzelnen Gruppen brachte folgende signifikante Ergebnisse:

NVA-Gruppe	>	NVAd-Gruppe	($p < 0,01$)
NVAS-Gruppe	>	HVAS-Gruppe	($p < 0,01$)
HVA-Gruppe	>	HVAS-Gruppe	($p < 0,05$)

Die hohe Vitamin A-Säure-Diät hatte die Körpergewichtsentwicklung im Vergleich zu der NVAS- und HVA-Diät deutlich beeinträchtigt. Außerdem wurde ein negativer Einfluß der Depletionsperiode auf das Wachstum der NVAd-Gruppe ermittelt.

Innerhalb keiner der 8 Fütterungsgruppen war eine Korrelation zwischen Antikörpertiter und Körpergewicht gegeben.

3.2.5 Versuch 4

3.2.5.1 Versuchsziel

In diesem Versuch wurde, analog zu Versuch 3, der Einfluß von VA und VAS auf die Antikörperbildung 8 Wochen alter Küken untersucht,

Tabelle 11

Einfluß von VA und VAS auf Antikörperbildung und Körpergewicht
8 Wochen alter Küken (Immunisierung im Alter von 4 und 8 Wochen
jeweils mit 70 mg HSA/kg KG i.p.)

Fütterungs- Gruppe	Tierzahl (n)	Serum - ABC ¹ ($\pm$ Standardabweichung) 8. Tag p.i. 12. Tag p.i.	Körpergewicht in g am Tag der Immunisierung ($\pm$ Standardabweichung)
NVA	17	3,65 $\pm$ 3,84 1,67 $\pm$ 1,48	833 ^a $\pm$ 78,60
HVA	19	2,31 $\pm$ 0,73 1,94 $\pm$ 1,47	824 ^c $\pm$ 86,53
NVAS	19	2,50 $\pm$ 2,20 1,50 $\pm$ 1,17	841 ^b $\pm$ 79,58
HVAS	22	2,72 $\pm$ 2,49 2,07 $\pm$ 2,39	756 ^{b,c} $\pm$ 59,66
NVAd	21	2,16 $\pm$ 1,05 1,77 $\pm$ 1,22	793 ^a $\pm$ 89,36
HVAd	21	2,95 $\pm$ 1,86 2,08 $\pm$ 1,30	792 $\pm$ 62,06
NVAsd	19	2,34 $\pm$ 1,75 1,39 $\pm$ 0,83	794 $\pm$ 62,11
HVAsd	21	3,39 $\pm$ 3,08 1,82 $\pm$ 1,75	762 $\pm$ 57,88

*Die Werte der Körpergewichte verschiedener Gruppen, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, unterscheiden sich signifikant (mindestens $p \leq 0,05$) voneinander

¹ Antigen-Bindungs-Kapazität: ABC- 33; 0,1 μ N ¹²⁵J-HSA/ml

die in diesem Alter zum zweiten Mal immunisiert wurden. Abweichend von Versuch 3 wurde die HSA-Dosis der Booster-Injektion auf 40 mg/kg KG reduziert, da Literaturangaben zufolge (133) Art und Ausmaß des Einflusses von Adjuvantien auf das Immunsystem von der Antigendosis abhängig sein können.

3.2.5.2 Versuchsanordnung (s. auch Tabelle 8 S.30)

Alle Tiere wurden im Alter von 4 Wochen mit 70 mg und im Alter von 8 Wochen mit 40 mg HSA/kg KG immunisiert.

8 Tage nach der zweiten Immunisierung wurde das Blut aus der Vena jugularis nach Betäubung der Tiere gewonnen.

3.2.5.3 Versuchsergebnisse

Über Antikörperbildung und Körpergewichte der Gruppen gibt Tabelle 12 Auskunft.

Statistische Vergleiche zwischen den Antikörpertitern bzw. Körpergewichten der einzelnen Gruppen führten zu folgenden signifikanten Ergebnissen:

- a) Antikörpertiter am 8. Tag p.i.
HVA-Gruppe > HVAS-Gruppe ($p < 0,05$)
- b) Körpergewicht am Tag der Immunisierung
HVA-Gruppe > HVAS-Gruppe ($p < 0,01$)

Die hohe VA-Dosis hatte die Antikörperbildung und Körpergewichtsentwicklung deutlich günstiger beeinflusst als die entsprechende VAS-Dosis.

In Tabelle 13 sind die signifikanten Ergebnisse der Versuche 1 - 4 zusammengefaßt.

Tabelle 12

Einfluß von VA und VAS auf die Antikörperbildung 8 Wochen alter Küken (Immunisierung im Alter von 4 Wochen mit 70 mg, im Alter von 8 Wochen mit 40 mg HSA/kg IG. Körpergewichte am Tag der Immunisierung, Antikörpertiter am 8. Tag p.i.)

Fütterungs-Gruppe	Tierzahl (n)	Serum - ABC ^{1*} ($\pm$ Standardabweichung)	Körpergewicht* in g ($\pm$ Standardabweichung)
NVA	30	2,98 $\pm$ 2,70	804 $\pm$ 82,51
HVA	30	3,13 ^a $\pm$ 2,76	823 ^b $\pm$ 97,17
NVAS	30	2,12 $\pm$ 1,83	804 $\pm$ 90,99
HVAS	27	1,85 ^a $\pm$ 1,15	761 ^b $\pm$ 43,40
NVAd	30	2,07 $\pm$ 1,68	792 $\pm$ 64,74
HVAd	30	2,68 $\pm$ 2,07	802 $\pm$ 65,99
NVAsd	30	1,82 $\pm$ 1,03	761 $\pm$ 106,87
HVAsd	30	2,33 $\pm$ 1,29	779 $\pm$ 63,73

*Die Werte der Antikörpertiter und Körpergewichte verschiedener Gruppen, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, unterscheiden sich signifikant (mindestens $p < 0,05$) voneinander

¹ Antigen-Bindungs-Kapazität: ABC - 33; 0,1 μ N ¹²⁵I-HSA/ml

Tabelle 13

Zusammenfassung der signifikanten Ergebnisse von Versuch 1 - 4

Versuch	1	2	3	4
Tag p.i.	8	8 12	8 12	8
Antikörpertiter im Serum	--	NVA > HVA ⁺ NVA > NVAd ⁺ NVASd > HVASd ⁺⁺ NVA > HVA ⁺ NVA > HVAS ⁺ NVASd > HVASd ⁺	--	HVA > HVAS ⁺
Körpergewicht (am Tag der Immunisierung)	NVA > NVAd ⁺ HVA > HVAS ⁺⁺	NVAd > NVASd ⁺⁺⁺ HVAd > HVASd ⁺⁺⁺ HVAS > HVASd ⁺⁺	NVA > NVAd ⁺⁺ NVAS > HVAS ⁺⁺ HVA > HVAS ⁺	HVA > HVAS ⁺⁺

+ p < 0,05

++ p < 0,01

+++ p < 0,001

3.2.6 Statistische Vergleiche zwischen den Antikörpertitern identischer Gruppen aus verschiedenen Versuchen

Statistische Vergleiche zwischen den Antikörpertitern identischer Fütterungsgruppen aus jeweils zwei verschiedenen Versuchen, die sich durch das Alter der Tiere oder die Art der Immunisierung unterscheiden, wurden mit folgenden Ergebnissen durchgeführt:

3.2.6.1 Vergleiche zwischen Versuch 1 und 2

Sämtliche 8 Wochen alte Gruppen waren den entsprechenden 4 Wochen alten Küken in der Antikörperbildung deutlich überlegen ($p < 0,001$ für alle Gruppen).

3.2.6.2 Vergleiche zwischen Versuch 2 und 3

a) Ergebnisse vom 8. Tag p.i.:

<u>Versuch 2</u>		<u>Versuch 3</u>	
NVASd	>	NVASd	($p < 0,001$)
NVAS	>	NVAS	($p < 0,01$)
NVAd	>	NVAd	($p < 0,05$)

b) Ergebnisse vom 12. Tag p.i.:

keine Signifikanzen

Ein Boostereffekt der 2. Immunisierung wurde bei keiner der 8 verschiedenen Fütterungsgruppen in Versuch 3 beobachtet. Während sich bei den meisten Gruppen die Antikörpertiter der Primär- und Sekundärantwort nicht unterschieden, zeigten am 8. Tag p.i. die NVASd-, NVAS- und NVAd-Gruppe signifikant höhere Antikörpertiter nach der Erst- als nach der Zweitimmunisierung. Diese Unterschiede konnten am 12. Tag p.i. nicht mehr nachgewiesen werden.

3.2.6.3 Vergleiche zwischen Versuch 2 und 4

<u>Versuch 2</u>		<u>Versuch 4</u>	
NVA	>	NVA	(p < 0,001)
NVAS	>	NVAS	(p < 0,001)
HVAS	>	HVAS	(p < 0,05)
NVASd	>	NVASd	(p < 0,001)

Auch nach der Verwendung der niedrigeren Antigendosis (40 mg HSA im Vergleich zu 70 mg HSA in Versuch 3) zur Zweitimmunisierung war in keiner Gruppe aus Versuch 4 ein Booster-Effekt nachweisbar. Die Antikörpertiter lagen bei 4 verschiedenen Gruppen nach der Erstimmunisierung signifikant höher als nach der Zweitimmunisierung.

3.2.6.4 Vergleiche zwischen Versuch 3 und 4

Die Antikörpertiter identischer Fütterungsgruppen, die im Alter von 8 Wochen zum zweiten Mal mit 70 oder 40 mg HSA/kg KG immunisiert wurden, unterschieden sich nicht signifikant.

3.2.7 Vitamin A-Gehalt der Leber

In Tabelle 14 sind die Ergebnisse der Vitamin A-Bestimmungen in 10 verschiedenen Leberpools von je 10 Lebern, die als Stichproben einigen Tieren aus Versuch 2 und 3 entnommen wurden, angegeben.

Die Vitamin A-Konzentrationen pro Leber (bzw. 1 g Leber) stimmten in beiden Versuchen bei den NVAd-, HVAd- und HVA-Gruppen nahezu überein. Lediglich die Werte der NVA-Gruppen aus Versuch 2 und 3 wichen voneinander ab. Die Vitamin A-Speicherung der HVA-Gruppe übertraf die der NVA-Gruppe um das 30 - 90fache. Ein Einfluß der Depletionsperiode auf das Vitamin A-Speichervermögen der Leber war nur undeutlich zu erkennen.

Tabelle 14

Einfluß von VA und VAS auf den VA-Gehalt der Leber¹

	Fütterungs- gruppe	Ø Gewicht/Leber (g)	Ø I.E. Vit.A in Gesamt-Leber in 1 g Leber	
Versuch 2	NVA	21,5	1.016	47
	HVA	22,5	36.285	1.613
	NVAS	21,7	153	7
	HVAS	20,4	1.159	57
	NVAd	24,3	467	19
	HVAd	22,2	33.541	1.511
Versuch 3	NVA	25,6	404	16
	HVA	23,1	37.191	1.610
	NVAd	23,7	523	22
	HVAd	23,5	34.172	1.454

Auch in den Lebern der HVAS-Gruppe aus Versuch 2 wurden Vitamin A-Mengen bestimmt, die im Bereich der NVA-Gruppe lagen. Die Lebern der NVAS-Gruppe hingegen enthielten nur Spuren dieses Vitamins.

¹VA-Bestimmung im Pool von je 10 Lebern

4. DISKUSSION

4.1 Versuchsanordnung

Die Suche nach Faktoren, die die allgemeine Abwehrlage eines Organismus zu steigern vermögen, ist vor allem für das Jungtier von großer Bedeutung, da die Resistenz- und Immunitätsmechanismen während der postnatalen Lebensphase noch unvollständig entwickelt sind.

Gegenstand vorliegender Arbeit war es, den Einfluß von Vitamin A auf die Antikörperbildung 4 und 8 Wochen alter Küken zu überprüfen.

Die Immunglobulinsynthese des ausgewachsenen, konventionell ernährten Huhnes wird nach Steinberg et al. (135) durch zusätzliche Vitamin A-Applikation nicht beeinflusst. Das Vitamin wurde jedoch in ihren Versuchen nur über einen Zeitraum von 5 Tagen und lediglich in einer Dosierung verabreicht, so daß uns ausgedehntere Untersuchungen zur Überprüfung der immunologischen Wirksamkeit von Vitamin A bei dieser Spezies angebracht erschienen.

Zu diesem Zweck verabreichten wir 4 verschiedene Diäten mit niedrigem oder hohem Vitamin A-Azetat (VA)- bzw. Vitamin A-Säure (VAS)-Gehalt an HNL-Eintagsküken (NVA-, HVA-, NVAS-, HVAS-Gruppe).

Im Vergleich zu einer Küken-Standard-Diät lagen die niedrigen Vitamin A-Konzentrationen im suboptimalen Bereich, während die hoch-vitamierten Diäten VA bzw. VAS im Überschuß enthielten. Beide Dosierungen gewährleisteten nach Tiews und Zentz (142) sowie Panda und Combs (119) normales Wachstum und Futterverwertung beim Küken.

Weitere 4 Gruppen wurden nach einer Vitamin A-armen Fütterungsperiode (Depletionsperiode) vom 17. Lebenstag an, als ca. 4 % der Tiere Frühsymptome eines Vitamin A-Mangels (Ataxien) zeigten, ebenfalls auf die 4 verschiedenen Diäten umgestellt (NVAd-, HVAd-, NVASd-, HVASd-Gruppe). Da zu diesem Zeitpunkt keine Beeinträchtigung der Körpergewichtsentwicklung bei den depletierten Tieren festzu-

stellen war und außerdem die Vitamin A-Mangelsymptome schon wenige Tage nach Verabreichung VA- oder VAS-haltigen Futters wieder verschwanden, war eine nachhaltige Schädigung des Organismus durch die Vitamin A-Depletion nicht zu befürchten.

Die Antikörperbildung der 8 verschiedenen Fütterungsgruppen wurde in 4 Versuchen mit insgesamt 902 Küken unter Berücksichtigung verschiedener immunologischer Fragestellungen mit dem Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test untersucht. Als Antigen diente Human-Serumalbumin (HSA).

Die mit diesem Testverfahren zu verschiedenen Zeiten wiederholt durchgeführten Mehrfachbestimmungen der Antikörpertiter identischer Serumproben zeigten Abweichungen der Werte von durchschnittlich nur 4 %, so daß die in allen Versuchen ermittelten relativ hohen Standardabweichungen der Mittelwerte nicht auf das Antikörperbestimmungsverfahren sondern auf die starke biologische Streuung des Tiermaterials zurückzuführen sind.

4.2 Beeinflussung der Primärantwort 4 und 8 Wochen alter Küken durch Vitamin A

Der Einfluß von VA und VAS auf die Primärantwort des noch unterentwickelten bzw. nahezu vollständig ausgereiften Immunsystems wurde an 4 bzw. 8 Wochen alten Küken überprüft.

Folgende Gruppen der 8 Wochen alten Tiere unterschieden sich am 8. und 12. Tag post immunisationem (p.i.), d.h. zur Zeit maximaler und wieder abfallender Antikörperkonzentration im Serum, signifikant in ihrer Antikörperbildung:

8. Tag p.i.

NVA - Gruppe > HVA - Gruppe

NVA - Gruppe > NVAd - Gruppe

NVASd - Gruppe > HVASd - Gruppe

12. Tag p.i.

NVA - Gruppe > HVA - Gruppe

NVASd - Gruppe > HVASd - Gruppe

Ein negativer Einfluss der Depletionsperiode auf die Immunreaktion der NVA-Gruppe äußerte sich lediglich zur Zeit maximaler Antikörperbildung am 8. Tag p.i., während die Gruppenunterschiede zwischen NVA- und HVA-Gruppe an beiden Blutentnahmetagen gleichermaßen signifikant ($p < 0,05$), die Unterschiede zwischen NVASd- und HVASd-Gruppe hingegen am 8. Tag p.i. deutlicher ($p < 0,01$) als am 12. Tag p.i. ($p < 0,05$) auftraten.

Demgegenüber berichten andere Autoren, daß sich die Adjuvanswirkung von Vitamin A-Palmitat und Retinol bei Maus (82) und Meerschweinchen (145) mit zunehmendem zeitlichen Abstand von der Immunisierung (und damit verbundenem Abfall des Antikörpertiters im Serum) deutlicher äußerte. In diesen Untersuchungen kamen jedoch - verglichen mit dem von uns verwandten HSA - relativ starke Antigene mit protrahierender Wirkung auf die Antikörperbildung zur Anwendung, so daß ein direkter Vergleich dieser Befunde mit den eigenen Ergebnissen nur unter Vorbehalt angestellt werden darf.

Unsere Ergebnisse zeigen deutlich, daß niedrige VA- bzw. VAS-Konzentrationen in der Diät einen günstigeren Einfluß auf die Immunglobulinsynthese ausübten als die Zufuhr dieser Vitamine im Überschuß.

Der Befund, daß dieser Dosiseffekt nach der VA-Applikation nur bei nicht-depletierten, nach der Verabreichung von VAS hingegen nur bei depletierten Tieren auftrat, ist nicht einfach zu erklären. Grundsätzlich kann jedoch angenommen werden, daß ein Organismus nach Entzug einer Wirksubstanz stärker auf Dosisunterschiede dieser ihm erneut zugeführten Substanz reagiert als wenn diese ihm kontinuierlich zugeführt worden wäre. Dies gilt möglicherweise nur unter der Voraussetzung, daß der Entzug der Substanz per se die betreffende Reaktion nicht beeinflusst. So war nach der Applikation von VAS der Dosiseffekt auf die Antikörperbildung nur bei depletierten Tieren, deren Immunreaktion durch die Depletionsperiode selbst nicht beeinflusst wurde, nachweisbar.

Die Immunreaktion der NVA-Gruppe hingegen, welche der HVA-Gruppe in der Antikörperbildung überlegen war, wurde durch die Depletion beeinträchtigt. Wahrscheinlich manifestierte

sich aus diesem Grund der Dosiseffekt von VA auf die Antikörperbildung nur bei den nicht-depletierten Küken der VA-Gruppen, nicht hingegen bei den depletierten Tieren.

Ein antagonistischer Effekt des Vitamin A auf die Antikörperbildung wurde bisher nur beim Meerschweinchen nach oraler Applikation von VAS beobachtet (81).

Beim Huhn blieb eine Vielzahl von Adjuvantien, die bei anderen Tierarten die Immunantwort anheb, ohne Einfluß. Deshalb wurde die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß bei dieser Spezies die Umwandlung von X-Zellen (Antigen-empfindliche Zellen) in Z-Zellen (antikörperbildende Zellen) durch die Applikation von Adjuvantien nicht beeinflußt werden kann (135). Daraus läßt sich jedoch nur ein ausbleibender, nicht hingegen der in unseren Untersuchungen beobachtete antagonistische Effekt hoher Vitamin A-Gaben auf die Immunreaktion des Kükens erklären.

Die Körpergewichtsentwicklung der Küken wurde - im Unterschied zur Globulinsynthese - durch die Verabreichung der HVA- oder HVAS-Diät nicht beeinträchtigt.

Dies steht im Einklang mit zahlreichen Literaturbefunden, die ebenfalls auf keine Korrelation zwischen Körpergewichtsentwicklung und Antikörperbildungsvermögen eines Organismus hinweisen (5, 98, 136, 137, 158).

Der negative Einfluß hoher VA- bzw. VAS-Dosierungen in der Diät auf die Antikörperbildung läßt sich somit nicht auf eine Applikation der Vitamine im toxischen Bereich zurückführen.

Nach den Untersuchungen von Tiews und Zentz (142) am Küken stellte sich ein wachstumsdepressiver Effekt hoher Vitamin A-Konzentrationen in der Diät erst ab einem Dosisbereich ein, der die in vorliegender Arbeit verwandte hohe VA- bzw. VAS-Dosierung um das 30fache übertrifft.

Aus den Ergebnissen des vorliegenden Versuchs läßt sich folgern, daß die unterschiedliche immunologische Wirksamkeit niedriger und hoher Vitamin A-Dosierungen in der Diät spezifischer Art ist, da die Körpergewichtsentwicklung der Tiere keine ihrem immunologischen Verhalten analogen Unterschiede zeigte.

Während bei 8 Wochen alten Küken VA- und VAS-abhängige Unterschiede in der Antikörperbildung ermittelt wurden, reagierte das Immunsystem 4 Wochen alter Küken einheitlich auf die Verabreichung der 4 verschiedenen Diäten. Auch konnte kein Einfluß der Depletionsperiode auf die Antikörperbildung nachgewiesen werden. Diese Diskrepanz zwischen dem immunologischen Verhalten 4 und 8 Wochen alter Küken ist allem Anschein nach auf den unterschiedlichen immunologischen Reifezustand dieser Altersstufen und nicht auf die unterschiedliche Dauer der Fütterungsperiode in beiden Versuchen zurückzuführen:

Obwohl die VA- und VAS-depletierten Gruppen der 4 Wochen alten Küken erst 11 Tage vor der Immunisierung, die der 8 Wochen alten Tiere hingegen schon 39 Tage vor der Immunisierung auf die VA- bzw. VAS-haltigen Diäten umgestellt worden waren, konnte ein negativer Einfluß der Depletionsperiode auf die Antikörperbildung nur bei 8 Wochen alten, nicht hingegen bei 4 Wochen alten Küken festgestellt werden. Daraus ließe sich folgern, daß sich der Einfluß von VA und VAS auf die Antikörperbildung des Kükens erst mit zunehmender Reifung des Immunsystems manifestiert.

Entgegen unseren Ergebnissen beobachteten Panda und Combs (119), daß 4 Wochen alte Küken auf einen Vitamin A-Mangel in der Diät mit verminderter Antikörperbildung gegenüber *Salmonella pullorum*-Antigen antworteten. Die Diskrepanz zwischen diesem und unserem Ergebnis scheint ursächlich in der Anwendung unterschiedlicher Antigene begründet zu sein, da das *Salmonellen*-Antigen im Vergleich zu HSA ein sehr starkes Antigen darstellt.

Offensichtlich können bei derartigen Untersuchungen unterschiedliche Versuchsanordnungen die Ergebnisse entscheidend beeinflussen (s.auch 2.1.2.2.2.1).

4.3 Beeinflussung der Sekundärantwort 8 Wochen alter Küken durch Vitamin A

Die während der Primärantwort beobachteten VA- und VAS-abhängigen Unterschiede in der Antikörperbildung (s.4.2) traten nach der Boosterimmunisierung nicht auf. In Abweichung zu den nach ein-

maliger Immunisierung ermittelten Ergebnissen war nach der Boosterimmunisierung die HVA-Gruppe der HVA-S-Gruppe in der Antikörperbildung überlegen.

Des öfteren wird berichtet, daß sich der Einfluß verschiedener Vitamine auf die Immunantwort nach der Erstimmunisierung deutlicher äußert als nach wiederholten Antigeninjektionen (159, 160, 162). Möglicherweise sind die für die Antikörperbildung nach erster Immunisierung verantwortlichen sog. Z-Zellen in stärkerem Maße funktionell durch Vitamine beeinflussbar als die für die Sekundärantwort verantwortlichen, als Folge der Erstimmunisierung entstandenen sog. Gedächtniszellen.

Auch wurde beobachtet, daß sich ein Vitamin-Einfluß auf die Antikörperbildung nach schwachen Antigenstimuli deutlicher äußerte als nach starkem antigenem Reiz (133, 159). Daraus ließe sich erklären, daß vitaminabhängige Unterschiede in der Immunglobulinbildung nach der Boosterimmunisierung, die im allgemeinen eine stärkere Immunantwort hervorruft als die Erstimmunisierung (Booster-Effekt), weniger deutlich auftreten als nach der Erstimmunisierung.

Unerwarteterweise lagen bei allen Gruppen, mit Ausnahme der HVA- und HVA-S-Gruppe, die Boostertiter signifikant niedriger als die Werte, die nach einmaliger Immunisierung ermittelt wurden. Auch nach Verabreichung der hohen VA-Diät blieb ein Boostereffekt aus; doch war die Immunantwort dieser Küken - in Übereinstimmung mit Ergebnissen aus Voruntersuchungen an konventionell ernährten Tieren - während der Primär- und Sekundärantwort gleich stark ausgeprägt.

Da darüber hinaus die Boostertiter der HVA-Gruppe die der anderen Fütterungsgruppen (statistisch gesichert nur gegenüber der HVA-S-Gruppe) übertrafen, scheint ein Angebot von VA im Überschuß einen günstigeren Einfluß auf die Sekundärreaktion auszuüben als die Applikation des Vitamins in suboptimaler Dosierung. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu den Befunden, die während der Primärantwort bei Küken erhoben wurden.

4.4 Einfluß von Vitamin A auf Körperwachstum und Vitamin A-Speicherung in der Leber

In Wachstumsversuchen an Küken ermittelte Hoppe (68) im Dosisbereich zwischen 200 und 6 400 I.E. VA bzw. VAS/kg Diät eine

relative Wirksamkeit der VAS im Vergleich zu VA von durchschnittlich 65 %. Dieses Ergebnis wurde bei der Zusammenstellung unserer Diäten berücksichtigt. Dennoch lagen die Körpergewichte der HVA-Gruppe in 3 von 4 Versuchen signifikant (um nahezu 10 %) über den Werten der HVAS-Gruppe.

Demnach ließ sich in unserem Dosisbereich (30 000 I.E. Vitamin A/kg) die von Hoppe ermittelte relative Vitamin A-Wirksamkeit der VAS von 65 % nicht bestätigen.

In Untersuchungen über das VA-Speicherungsvermögen der Lebern unterschiedlicher Fütterungsgruppen wurden bei den HVA-Gruppen 30 - 90fach höhere VA-Konzentrationen bestimmt als bei den NVA-Gruppen, während sich die entsprechenden Diäten nur um den Faktor 10 in ihrem VA-Gehalt unterschieden. Auch andere Autoren ermittelten beim Küken keine direkte Proportionalität zwischen steigenden VA-Konzentrationen in der Diät und VA-Speicherung der Leber (142).

In vorliegender Arbeit wurden in den Lebern der nicht-depletierten NVAS- und HVAS-Gruppe VA-Mengen bestimmt, die im Bereich der NVA-Gruppe lagen.

Zahlreiche Literaturbefunde weisen jedoch darauf hin, daß die Vitamin A-Säure im Organismus nicht in Retinol, Retinal oder Vitamin A-Ester umgewandelt wird (4, 26, 88, 123, 130, 142). Experimentelle Untersuchungen über die VA-Speicherung in den Lebern ausschließlich mit VAS versorgter Küken wurden bisher nur an Tieren, die vor der VAS-Applikation Vitamin A-depletiert worden waren, durchgeführt. Die Lebern dieser Tiere enthielten kein Vitamin A (88, 142).

Krishnamurthy und Mitarbeiter (88) weisen auf einen Vitamin A-sparenden Effekt der VAS hin, der sich bei Vitamin A-depletierten Küken in einer Verzögerung des Auftretens von Mangelsymptomen nach Verkürzung der Vitamin A-Mangelperiode durch VAS-Zufuhr äußerte.

Demnach besteht die Möglichkeit, daß es sich bei den von uns ermittelten VA-Spuren in Lebern von Küken, die vom 1. Lebenstag an mit VAS versorgt wurden, um noch vom Dottersack herrührende Vitamin A-Mengen handelt, die durch die VAS-Applikation "eingespart" wurden.

Auf diese Vermutung soll nur mit Vorbehalt hingewiesen werden, da die Vitamin A-Speicherung der VAS-Gruppen nicht in Einzel-

organen sondern im Leber-Pool bestimmt wurde und außerdem depletierte VAS-Gruppen in die Untersuchungen nicht mit einbezogen worden waren.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Um den Einfluß von Vitamin A-Azetat (VA) und Vitamin A-Säure (VAS) auf die Antikörperbildung beim Küken zu untersuchen, wurden vier verschiedene Diäten mit niedrigem oder hohem VA- bzw. VAS-Gehalt Eintagsküken verabreicht (NVA-, NVAS-, HVA-, HVAS-Gruppe). Dieselben Diäten erhielten VA- und VAS-depletierte Tiere vom 17. Lebenstag an (NVAd-, NVASd-, HVAd-, HVASd-Gruppe). Die Antikörperbildung der acht Fütterungs-Gruppen wurde in vier Versuchen nach unterschiedlichen Fütterungsperioden unter Einbeziehung verschiedener immunologischer Fragestellungen mit dem Antigen-Bindungs-Kapazitäts-Test untersucht. Bei der Immunisierung der Tiere mit Human-Serumalbumin wurden Dosis und Applikationshäufigkeit des Antigens variiert.

Folgende Befunde wurden erhoben:

1. Die Antikörperbildung der im Alter von 4 Wochen zum ersten Mal immunisierten Küken (Primärantwort) wurde durch VA und VAS nicht beeinflußt.

2. Während der Primärantwort acht Wochen alter Küken wurden folgende vitaminabhängige Unterschiede in der Antikörperbildung ermittelt:

NVA - Gruppe	>	HVA - Gruppe
NVA - Gruppe	>	NVAd - Gruppe
NVASd- Gruppe	>	HVASd- Gruppe

3. Die Sekundärantwort acht Wochen alter Tiere hingegen wurde durch VA und VAS nicht beeinflußt. Bei beiden Immunisierungen wurde dieselbe Antigen-Dosis verwandt. Nach einer Erniedrigung der Booster-Antigendosis war die HVA-Gruppe der HVAS-Gruppe in der Antikörperbildung deutlich überlegen.

4. Innerhalb keiner Fütterungsgruppe bestand eine Korrelation zwischen Antikörperbildungskapazität und Körpergewicht der Küken.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, daß sich der Einfluß von VA und VAS auf die Antikörperbildung des Kükens erst mit zunehmender Reifung des Immunsystems manifestiert. Die perorale Verabreichung suboptimaler

VA- bzw. VAS-Dosierungen wirkte sich günstiger auf die Immunglobulinbildung aus als ein Angebot der Vitamine im Überschuß. Diese Unterschiede in der Immunantwort traten jedoch nur während der Primärreaktion, nicht hingegen nach der Boosterimmunisierung auf.

S U M M A R Y

In order to investigate the influence of vitamin A-acetate (VA) and vitamin A-acid (VAS) on antibody production, one day old chickens were fed four diets with low or high levels of vitamin A and vitamin A acid respectively (groups NVA, NVAS, HVA, HVAS). In addition the same diets were offered to 17 days old chickens, which had been depleted of vitamin A or vitamin A acid (groups NVAd, NVASd, HVAd, HVASd). Thus, each of the four experiments performed, included 8 groups of animals. Individual experiments differed in the duration of feeding periods. Moreover, different immunological problems have been investigated in the individual experiments. Antibodies were measured with the Antigen-Binding-Capacity-Test. The animals were immunized with human serum-albumin. Both the dose of the antigen and its frequency of application varied.

The following results were obtained:

1. Antibody-production of chickens, which had been immunized for the first time at the age of four weeks (primary response), was neither influenced by VA nor by VAS.

2. During the primary response of eight weeks old chickens the following group-differences in antibody-production were found:

group NVA > group HVA
group NVA > group NVAd
group NVASd > group HVASd

3. However the secondary reaction of eight weeks old chickens was not influenced by either VA or VAS. Both immunizations had been performed with the same amount of antigen. When the dose of the booster-antigen-injection was lowered, the antibody production of the HVA-group exceeded that of the HVAS-group.

4. Between antibody-production and body-weight of the chickens no correlation could be established.

The results indicate, that the influence of VA and VAS on antibody production of the chicken becomes evident only with increasing maturation of the immune-system. The oral application of suboptimal VA- and VAS-doses respectively exerted a more favourable influence on immunoglobulin-production compared to an excessive supply of the vitamins. However, these differences in immune-response only occurred during primary-reaction and not after the booster-immunization.

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. Ackert, J.E., M.F. Mc Ilvaine, N.Z. Crawford 1931
The resistance of chickens to parasitism affected
by vitamin A.
Am.J.Hyg. 13, 320
2. Allison, A.C., L. Mallucci 1964
Lysosomes in dividing cells with special reference to
lymphocytes.
Lanc. 26, 1371
3. Anderson, O. 1932
Über die Verhältnisse des Lysozyms bei Xerophthalmie.
Acta paed. 14, 81
4. Arens, J.F., D.A. van Dorp 1946
Activity of "vitamin A acid" in the rat.
Nature (London) 158, 622
5. Axelrod, A.E., S.J. Hopper 1960
Effects of pantothenic acid, pyridoxine and thiamine
deficiencies upon antibody formation to influenza
virus PR-8 in rats.
J.Nutr. 72, 325
6. Axelrod, A.E., J. Pruzansky 1955
The role of the vitamins in the antibody production.
Vitam.Horm. 13, 1
7. Azar, M.M., R.A. Good 1971
The inhibitory effect of vitamin A on complement levels
and tolerance production.
J.Immun. 106, 241
8. Bangham, A.D., J.T. Dingle, J.A. Lucy 1964
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
9. Penetration of lipid monolayers by compounds in the
vitamin A series.
Biochem.J. 90, 133
9. Barenberg, L.H., J.M. Lewis 1932
Relationship of vitamin A to respiratory infections.
J.Am.Med.Ass. 98, 199

10. Beaver, D.L. 1961
Vitamin A deficiency in the germ-free rat.
Am.j.path. 38, 335
11. Behring, E. von 1889
Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes.
Z.ges.Hyg. 6, 117
12. Billitteri, A., Y.Raoul 1965
Action de la vitamin A sur le complément in vitro et in vivo.
C.r.Séanc.Soc.Biol. 159, 1882
13. Biozzi, G., B.Benacerraf, B.B.Halpern 1953
Quantitative study of the granulopoietic activity of the reticulo - endothelial system.
II. A study of the kinetics of the granulopoietic activity of the RES in relation to the dosage of carbon injected. Relationship between the weight of the organs and their activity.
Brit.J.Exp.Path. 34, 441
14. Blackberg, S.N. 1927
Effect on the immunity mechanism of various avitaminoses.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 25, 770
15. Bloch, C.E. 1919
Klinische Untersuchungen über Dystrophie und Xerophthalmie bei jungen Küken.
Jber.Kinderheilkde. 89, 405
16. Boynton, L.C., W.L. Bradford 1931
Effect of vitamins A and D on resistance to infection.
J.Nutr. 4, 323
17. Burnet, F.M. 1959
In: "The clonal selection theory of acquired immunity".
Univ.Press, Cambridge
18. Buschmann, H. 1970
Experimentelle Untersuchungen zur Heritabilität von Resistenz- und Immunitätsmechanismen.
Habil.-Schrift med.vet., München

19. Clausen, S.W. 1934
The influence of nutrition upon resistance to infection.
Phys.Rev. 14, 309
20. Cohrs, P. 1942
Hyperkeratose des Pansens, A-Avitaminose und Kälberruhr.
Berl.MÜnch.tierärztl.Ws. 27/28, 209
21. Conrad, D.H., G.H.Wirtz 1972
Vitamin A: Probe of immune complement reactions. IV.
Activity of a short chain analogue of vitamin A.
Immunochem. 9, 360
22. Cordingley, J., T.Nicol 1961
Effect of added vitamins on the phagocytic activity of
the reticulo-endothelial system of mice.
Nature (London) 191, 82
23. Cramer, W. 1923
On the mode of action of vitamins.
Lanc. I, 1046
24. de Duve, C. 1959
In: "Lysosomes- a new group of cytoplasmic particles".
T.Hayashi, New York
25. de Duve, C. 1963
In: "Lysosomes".
hrsg.von A.V.S. de Reuck and M.P.Cameron, S.1
Little, Brown u. Company, Boston
26. de Man, T.J., P.H. van Leeuwen, J.R.Roborgh 1964
Growth test and liver storage of all- trans vitamin A
acid and three of its geometric isomers with chicks.
Nature (London) 201, 77
27. Dingle, J.T. 1961
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
III. Release of a bound protease by the action of vitamin A.
Biochem.J. 79, 509
28. Dingle, J.T., J.A.Lucy 1962
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
5. The effect of vitamin A on the stability of the
erythrocyte.
Biochem.J. 84, 611
29. Dingle, J.T., J.A.Lucy 1965
Vitamin A, Carotenoids and cell function.
Biol.Rev. 40, 422

30. Dingle, J. T., A.M. Glauert, M. Daniel, J.A. Lucy 1962
Vitamin A and membrane systems. I. The action of the
vitamin on the membranes of cells and intracellular
particles.
Biochem. J. 84, 76
31. Dresser, D.W. 1968
Adjuvanticity of vitamin A.
Nature (London) 217, 527
32. Eden, E., K.C. Sellers 1950
Hydrolysis and esterification of vitamin A during
absorption.
Biochem. J. 46, 261
33. Ehrlich, P. 1900
On immunity with special reference to cell life.
Proc. R. Soc. London, 66, 424
34. Erwin, E.S., T.R. Varnell, H.M. Page 1959
Relationship of vitamin A and carotene to bovine
serum proteins.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 100, 373
35. Falconer, E. 1926
Blood counts in vitamin A deficiency disease with
special reference to platelets.
Am. j. physiol. 76, 145
36. Farr, R.S. 1958
A quantitative immunochemical measure of the
primary interaction between J-BSA and antibody.
J. infect. Dis. 103, 239
37. Fell, H.B., J.T. Dingle 1963
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
VI. Lysosomal protease and the degradation of cartilage
matrix.
Biochem. J. 87, 403
38. Fell, H.B., J.T. Dingle, M. Webb 1962
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
IV. The specificity of the effect on embryonic chick-
limb cartilage in culture and on isolated rat-liver
lysosomes.
Biochem. J. 83, 63

39. Feller, A.E., L.B. Roberts, E.P. Ralli, T. Francis 1942
Studies on the influence of vitamin A and vitamin C
on certain immunological reactions in man.
J.clin.Invest. 21, 121
40. Folkers, K., H.J. Robinson 1959
Symposium über "Biological Effects of Endotoxins
in Relation to Immunity".
Freiburg i.Br.
41. Follis, R.H. 1948
In: "The Pathology of Nutritional Disease".
C.Thomas, Springfield, Illinois
42. Frei, W. 1963
In: "Allgemeine Pathologie für Tierärzte".
Paul Parey Verlag, Berlin-Hamburg
43. Friend, C.J., C.R.C. Heard, B.S. Platt, R.J.C. Stewart,
M.R. Turner 1961
The effect of dietary protein deficiency on transport
of vitamin A in the blood and its storage in the liver.
Brit.J.Nutr. 15, 231
44. Garbe, K. 1957
Die Veränderungen des Nukleinsäurestoffwechsels der
Vitamin A-frei ernährten Ratte unter besonderer Be-
rücksichtigung der analytischen Methoden.
Diss.med.vet., München
45. Gell, P.G.H., B. Benacerraf 1961
Delayed hypersensitivity to simple protein antigens.
Adv.Immunol. 1, 319
46. Gellhorn, E., J.O. Dunn 1937
The influence of lack of vitamin A in the diet on the
phagocytosis promoting properties of the blood serum.
J.Nutr. 13, 317
47. Gerriets, E. 1960
Die präventive Wirkung des Vitamin A bei der Blinddarm-
coccidiose der Hühnerküken.
D.t.ä.W. 67, 485
48. Gerzymisch, J.A., Hock, E. Gehrke 1968
Einfluß verschiedener Eiweißqualität auf Wachstum, Serum-
harnstoffgehalt und Antikörperspiegel gegen verimpfte
Rotlaufkeime beim Schwein.
Arch.Exp.Vet.Med. 23, 693

49. Glauert, A.M., M.R.Daniel, J.A.Lucy, J.T.Dingle 1963
Studies on the mode of action of vitamin A. VII.
Changes in the fine structure of erythrocytes
during haemolysis by vitamin A.
J.Cell.Biol. 17, 111
50. Golub, E.S., J.K.Spitznagel 1965
The role of lysosomes in hypersensitivity reactions:
Tissue damage by polymorphonuclear neutrophile
lysosomes.
J.Immun. 95, 1060
51. Greene, M.R. 1933
The effects of vitamin A on antibody production and
resistance to infection.
Am.J.Hyg. 17, 60
52. Green, H.N., H.S.Anker 1954
On the synthesis of antibody protein.
Biochem.biophys.A. 13, 365
53. Green, H.N., E.Mellanby 1928
Vitamin A as an anti-infective agent.
Brit.Med.J. 2, 691
54. Green, H.N., D.Pinlar, G.Davis, E.Mellanby 1931
Diet as a prophylactic agent against puerperal sepsis.
Brit.Med.J. 2, 595
55. Grimm, L., J.Tiews 1972
Über eine methodische Verbesserung der Vitamin A-
Bestimmung in Futtermitteln mit Hilfe des Dichloräthan-
eingußverfahrens.
Landwirt.Forschung 27/II Sonderheft
56. Guggenheim, K., E.Buechler 1946
Nutrition and resistance to infection. Bactericidal
properties and phagocytic activity of peritoneal
fluid of rats in various states of nutritional deficiency.
J.Immun. 54, 349
57. Gylstorff, I. 1957
Der Wandel der Geflügelkrankheiten unter dem Einfluß
moderner Haltungs- und Behandlungsmethoden.
Dt.Wirtsch.Gefl.Ztg. 9, 837

58. Gylstorff, I. 1959
Praxiserfahrungen bei der Anwendung von Kokzidio-
statika für Prophylaxe und Therapie.
Arch.Geflügelk. 23, 47
59. Hammer, D. 1971
Persönliche Mitteilung an Dr.Herlyn
60. Harmon, B.G., E.R.Miller, J.A.Hoefer, D.E.Ullrey, R.Luecke 1963
Relationship of specific nutrient deficiencies to
antibody production in swine.
J.Nutr. 79, 263
61. Harms, F. 1942
Vitamin A und Tiergesundheit unter besonderer
Berücksichtigung der Infektionsbereitschaft und
Leistungsfähigkeit des Huhnes.
Habil.-Schrift, med.vet., Hannover
62. Hasek, M., A.Lengerová, T.Hrábá 1961
Transplantation immunity and tolerance.
Adv.Immunol. 1, 1
63. Heilmeyer, L., L.Kerp, H.Kasemir 1967
Zur Hemmung der Endotoxin-Hautentzündung durch Vor-
behandlung mit Vitamin A.
Klin.Ws. 45, 586
64. Herlyn, D. 1972
Antikörperbildung beim Huhn in Abhängigkeit von Alter
und Vitamin A-Versorgung.
Z.Tierphysiol.Tierernährg.Futtermittelkde. 30, 155
65. Herlyn, D. 1972
Unveröffentlichte Versuche, München
66. Herlyn, M. 1972
Die Medikamentelle Steigerung der unspezifischen
Resistenz.
Diss.med.vet., München
67. Hiraishi, T. 1927
Experimental ascariasis of young pigs with special
reference to A avitaminosis.
Jap.med.W. 7, 79
68. Hoppe, P. 1966
Die biologische Wirkung der Vitamin A-Säure und ihr
Verhalten im Wachstumstest an Küken.
Diss.med.vet., München

69. Hoppe, P., J.Brüggemann 1972
Untersuchungen über den Vitamin A-Gehalt in der
Leber von Wildtieren.
Int.Z.Vit.Forsch. 42, 23
- 69a. Hoppe, P., J.Gropp, J.Tiews 1971
Über die Vitamin A-Wirksamkeit synthetischer Eidotter-
pigmente bei Hühner- und Wachtelküken.
Arch.Geflügelk. 2, 72
70. Hort, J. 1958
The formation of natural and immune heteroagglutinins
by the domestic fowl during embryogenesis and post-
embryogenesis.
Fol.Biol. 4, 381
71. Humphrey, J.H., R.G.White 1971
Natürlicher oder normaler Antikörper
In: "Kurzes Lehrbuch der Immunologie".
hrsg.von E.Macher, S.29
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
72. Humphrey, J.H., R.G.White 1971
Immunologische Aspekte der Gewebetransplantation.
In: "Kurzes Lehrbuch der Immunologie".
hrsg. von E.Macher, S.371
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
73. Humphrey, J.H., R.G.White 1971
Rolle der Plasmazellen in der Antikörper-Biosynthese
In: "Kurzes Lehrbuch der Immunologie".
hrsg. von E.Macher, S.181
Georg Thieme Verlag, Stuttgart
74. Hunter, W.M. 1967
The preparation of radioiodinated proteins of high
activity, their reaction with antibody in vitro:
The radioimmunoassay.
In: "Handbook for experimental Immunology".
hrsg. von D.M.Weir, S. 608
Blackwell Scientific Publications
75. Hunter, W.M., F.C.Greenwood 1962
Preparation of Jodine - 131 labelled human growth
hormone of high specific activity.
Nature (London) 194, 496

76. Isliker, H., F.Weber, O.Wiss 1960
Die Beeinflussung des Properdins im Serum durch VitaminA,
B-Carotin, B-Apo-8-carotinal (C₃₀) und Lycopin bei der
Ratte.
H.S.Z.Ph.Ch. 320, 126
77. Jakob, K.H.A., D.M.Weir 1971
Lysosomal enzyme changes in mouse spleen cells after
antigenic stimulation.
Immunol. 21, 419
78. Jahn, G. 1963
Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung des
Vitamin A bei der Salmonellose der Hühnerküken.
Diss.med.vet., Berlin
79. Janoff, A., G.Kaley 1964
Studies on lysosomes in tolerance, shock and local
injury induced by endotoxin.
In: "Bacterial endotoxins" S. 631
hrsg.von M.Laudy u.W.Braun, Institute of Microbiology,
New Brunswick
80. Janoff, A., R.T. Mc Cluskey 1962
Effect of excess vitamin A on acid phosphatase content
of guinea pig peritoneal leucocytes.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 110, 586
81. Jansz, A., H.D.Flad, D.Koffler, P.A.Miescher 1967
The effect of vitamin A on experimental immune
thyreoiditis.
Int.Arch.All. 31, 69
82. Jurin, M., I.F.Tannock 1972
Influence of vitamin A on immunological response.
Immunol. 23, 283
83. Kabat, E.A. 1971
In: "Einführung in die Immunchemie und Immunologie".
Springer-Verlag, Berlin
84. Kolb, K. 1958
Probleme der Carotin- bzw.Vitamin A-Versorgung bei
Nutztieren.
Mh.Vet.Med.13, 692

85. Kligler, I.J., K.Guggenheim, E.Henig 1945
Susceptibility of vitamin A deficient and starved rats
and mice to a peroral infection with *Salmonella typhi*
murium.
J.Hyg. 44, 61
86. Koch, M.L., A.H.Smith 1924
The variation of complement of guinea pigs during scurvy.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 21, 366
87. Kolmer, J.A., T. Matsunani, M.E.Trist 1919
Studies in the standardization of the wassermann reaction.
IV. A general study of the complement of various animals
with special reference to human and guinea pig complements
and methods of collection.
Am.J.Syph. 3, 407
88. Krishnamurthy, S., J.G.Bieri, E.L.Andrews 1963
Metabolism and biological activity of vitamin A acid
in the chick.
Nutr. 79, 503
89. Lasnitzki, I. 1955
The effect of excess vitamin A on mitosis in chick
heart fibroblast in vitro.
Exp.Cell.Res. 8, 121
90. Lassen, H.C.A. 1930
Vitamin A deficiency and resistance against a specific
infection.
J.Hyg. 30, 300
91. Lavler, H.J. 1942
The relation of vitamin A to immunity to *Strongyloides*
infection.
Am.J.Hyg. 34, 65
92. Lawrence, H.S. 1949
The cellular transfer of cutaneous hypersensitivity
to tuberculin in man.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 71, 516
93. Lowry, H.O., N.J.Rosebrough, A.L.Farr, R.J.Randall 1951
Protein measurement with the folin phenol reagent.
Journ.Biol.Chem. 193, 265

94. Lucy, J.A., J.T.Dingle 1962
Vitamin A and membrane systems. 2.Membrane stability
and protein - vitamin A - lipid interactions.
Biochem.J. 84, 76
95. Lucy, J.A., J.T.Dingle 1964
Fat - soluble vitamins and biological membranes.
Nature (London) 204, 156
96. Lucy, J.A., M.Luscombe, J.T.Dingle 1963
Studies on the mode of action of excess of vitamin A.
VIII. Mitochondrial swelling.
Biochem.J. 89, 419
97. Ludovici, P.P., A.E.Axelrod 1951
Circulating antibodies in vitamin deficient states.
Pteroylglutamic acid, niacin-tryptophan, vitamin B₁₂,
A and D deficiencies.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 77, 526
98. Ludovici, P.P., A.E.Axelrod, B.B.Center 1949
Circulating antibodies in vitamin deficiency states.
Pantothenic acid deficiency.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 72, 81
99. Mayr, A. 1963
Resistenz und Immunität.
Berl.Münc.h.tierärztl.Ws. 76, 417
100. Mayr, A. 1965
In: "Handbuch der Schutzimpfungen" S.6
hrsg. von A.Herrlich,
Springer-Verlag, Berlin
101. Mayr, A. 1967
Beziehungen zwischen Ernährung, Resistenz und Immunität
bei Infektionskrankheiten.
ITA Symposium, Salzburg
102. Mayr, A., H.Buschmann 1967
Beziehungen zwischen Ernährung, Resistenz und Immunität
bei Infektionskrankheiten.
Tierärztl.Umsch. 9, 443
103. Major, P.C., S.S.Westfall, G.H.Wirtz 1969
Vitamin A: Probe of immune complement reactions.
Immunochem. 6, 527

104. McConahey, P.J., F.J.Dixon 1966
A Method of Trace Iodination of Proteins for
Immunologic Studies.
Int.Arch.All. 29, 185
105. McCoy, O.R. 1934
The effect of vitamin A deficiency on the resistance
of rats to infection with *Trichinella spiralis*.
Am.J.Hyg. 20, 169
106. McDonald, T.P. 1966
Effects of vitamin A on mucopolysaccharides of rat
blood platelets.
Am.j.physiol. 210, 807
107. Medhurst, F.A., A.A.Glynn 1970
In vivo bactericidal activity of mouse complement
against *E. coli*.
Brit.J.Exp.Path. 51, 498
108. Mellanby, E., H.Green 1928
Vitamin A as an anti-infective agent.
Brit.Med.J. 2, 691
109. Mellanby, E., H.Green 1929
Vitamin A as an anti-infective agent. Its use in the
treatment of puerperal septicemia.
Brit.Med.J. 1, 984
110. Metschnikoff, E. 1884
Über eine Sproßpilzkrankheit bei Daphnien. Beitrag
zur Lehre über den Kampf der Phagozyten gegen
Krankheitserreger.
Virchow's Archiv. 96, 177
111. Miller, G.L. 1959
Protein determination for large numbers of samples.
Annual.Chem. 31, 964
112. Mohanram, M., V. Reddy 1973
Incorporation of ³⁵S Sulphate into acid
mucopolysaccharides of colon in vitamin A deficient
children.
Int.J.Vit.Nutr.Res. 43, 56

113. Nelken, D., E.Pick, M.Gabriel, W.Bittermann, J.H.Boss 1965
Vitamin A - induced rejection of autografts and
homografts.
Nature (London) 205, 1022
114. Niesar, K.H. 1955
Eine biochemische Wirkung des Vitamin A.
Nat.Wiss. 42, 392
115. Nillo, L., L.M.Bereau 1961
Versuche mit Pseudomonas aeruginosa an Küken mit
Vitamin A-Mangel.
Can.J.comp.Med. 25, 42
116. Novikoff, A.B. 1963
In: "Role du Système Reticulo-Endothélial dans
l'Immunité Antibactérienne et Antitumorale"
hrsg.von B.N. Halpern, S.68
Editions du Centre national de la Recherche scientifique,
Paris
117. Osborne, T.W.B. 1932
A study of the factors influencing the concentration
of complement in the blood.
Biochem.J. 25, 2136
118. Orynych, R.W., G.H.Wirtz 1971
Vitamin A: Probe of immune complement reactions.
II. Enhancement of humane complement hemolysis.
Immunochem. 8, 113
119. Panda, B., G.F.Combs 1963
Impaired antibody production in chicks fed diets low
in vitamin A, panthotenic acid or riboflavin.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 113, 530
120. Paterson, J.C.S., H.S.Wiggins 1954
An estimation of plasma vitamin A and the vitamin A
absorption test.
Journ.clin.Path. 7/1, 56
121. Pick, E., I.Cohen, D.Nelken, W.Bittermann 1964
Fibrin - clot formation by extracts of rabbit - skin
homografts.
Nature (London) 202, 504

122. Pillemer, L. 1955
The properdin system.
Trans.N.Y.Acad.Sci. 17, 526
123. Redfearn, E.R. 1960
The metabolism of vitamin A acid and its C₂₅ homolog.
Arch.Biochem.Biophys. 91, 226
124. Reploh, H., H.J.Otte 1961
In: "Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie und
Infektionskrankheiten".
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart
125. Roels, O.A., M.Trout, A.Guha 1964
Vitamin A deficiency and acid hydrolases : β -Glycero-
phosphat phosphatase in rat liver.
Biochem.J. 93, 23
126. Roitt, I.M., G.Torrigiani, M.F.Greaves, J.Brostoff, J.H.L.Playfair
1969
The cellular basis of immunological responses.
Lanc. II 7616, 367
127. Rudolph, W. 1967
In: "Lehrbuch der Pathologischen Physiologie der
Haustiere".
hrsg.von K.Potel
Gustav-Fischer-Verlag, Jena
128. Schoop, G., K.H.Wagner, P.Minners 1954
Der Vitamin A-Mangel als prädisponierender Faktor
für die Kükenkokzidiose.
Mh.Tierheilkd. 6, 154
129. Seekles, L. 1966
Nutrition and Immunity - a Review.
16 th I.V.C.Meeting
130. Sharmann, I.M. 1949
The biological activity and metabolism of vitamin A
acid.
J.Nutr. 3, VIII
131. Smith, G.H., I.M.Wason 1923
Serological factors of natural resistance in animals
on a deficient diet.
J.Immun. 8, 195

132. Spindler, L.A. 1933
Relation of vitamin A to the development of a
resistance in rats to superinfections with an
intestinal nematode *Nippostrongylus muris*.
J.Parasit. 20, 72
133. Spitznagel, J.K., A.C.Allison 1969
Mode of action of adjuvants : Retinol and other
lysosome - labelizing agents as adjuvants.
J.Immun. 104, 119
134. Stark, J.M. 1970
Rate of antigen catabolism and immunogenicity of
 ^{131}J BGG in mice.
II. Immunogenicity of ^{131}J BGG and adjuvant action
after alteration of the metabolic rate by various
means.
Immun. 19, 457
135. Steinberg, S.V., J.A.Munro, W.A.Fleming, V.I.French, J.M.Stark,
R.G.White 1970
The influence of adjuvants on the immunological
response of the chicken. I. Effects on primary and
secondary responses of various adjuvants in the
primary stimulus.
J.Immun. 18, 365
136. Stoerk, H.C., H.N.Eisen 1946
Suppression of circulating antibodies in pyridoxin
deficiency.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 62, 88
137. Stoerk, H.C., H.N.Eisen, H.M.John 1947
Impairment of antibody response in pyridoxine-
deficient rats.
J.Exp.Med. 85, 365
138. Strauss, W. 1963
In: "Lysosomes".
hrsg.von A.V.S. de Reuck and M.P.Cameron, S. 151
Little, Brown u. Company, Boston

139. Strauss, W. 1964
Cytochemical observations on the relationship
between lysosomes and phagosomes in kidney and liver
by combined staining for acid phosphatase and intra-
venously injected horseradish peroxidase.
J.Cell.Biol. 20, 497
140. Taub, R.N., A.R.Krantz, D.W.Dresser 1970
The effect of localized injection of adjuvant material
on the draining lymph node.
Immun. 18, 171
141. Thimann, K.V. 1965
In: "Das Leben der Bakterien: Wachstum, Stoffwechsel,
und Verwandtschaftsbeziehungen".
Gustav-Fischer-Verlag, Jena
142. Tiews, J., Ch.Zentz 1967
Mikrobestimmung von Vitamin A im Blutserum und Leber-
punktaten mit FeCl_3 in Acetylchlorid.
Z.Vitaminforsch. 37, 307
143. Toneva, V. 1967
L'influence de la vitamin A sur l'infection virale
lors de la maladie d'aujezky du porcelet.
35. Session générale du comité de l'O.I.E., Paris
144. Turner, R.G., E.Loew 1931
The effect of withdrawal of vitamin A on leucozyte and
differential count in albino rat.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 28, 506
145. Uhr, J.W., G.Weissmann 1965
Intracellular distribution of bacteriophage in
mammalian tissue.
J.Immun. 94, 544
146. Uhr, J.W., G.Weissmann, L. Thomas 1963
Acute Hypervitaminosis A in guinea pigs. II. Effects on
delayed - type hypersensitivity.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 112, 287

147. Underdahl, N.R., G.A.Young 1956
Effect of dietary intake of fat-soluble vitamins
on intensity of experimental swine influenza virus
infection in mice.
Virol. 2, 415
148. Urbain-van Santen, G. 1970
Concomitant synthesis in separate cells of non-
reacting immunoglobulins and specific antibodies
after immunization with tobacco mosaic virus.
Immun. 19, 783
149. Verder E. 1928
Effect of diets deficient in vitamin A or B
on resistance to paratyphoid-enteritidis
organisms.
J.infect.Dis. 42, 589
150. Wang, D.Y., F.Slater, H.J.A. Dartnall 1963
Swelling properties of retinal mitochondria.
Biochem.J. 86, 5
151. Weaver, H.M. 1946
Resistance of cotton rats to the virus of
polyomyelitis as affected by intake of vitamin A,
partial inanition and sex.
J.Ped. 28, 22
152. Weber, E. 1972
Grundriß der biologischen Statistik.
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart
153. Week, E.F., F.J.Sevigne 1950
Vitamin A utilization studies.
1. The utilization of vitamin A alcohol, vitamin A
acetate and vitamin A natural esters by the chick.
J.Nutr. 39, 233
154. Weinhold, E. 1966
Zellphagozytose in der Rinderleukozytenkultur.
Berl.Münch.tierärztl.Ws. 79, 130

155. Weissmann, G., L. Thomas 1963
Studies on lysosomes. II. The effect of cortisone on the release of hydrolases from a large granule fraction of rabbit liver induced by an excess of vitamin A.
J.clin.Invest. 42, 661
156. Werkmann, C.H. 1923
Immunologic significance of vitamins. Influence of lack of vitamins on the production of specific agglutinins, precipitin, hemolysins in the rat, rabbit and pigeon.
J.infect.Dis. 32, 245
157. Werkmann, C.H., V.E.Nelson, E.J.Fullmer 1924
Influence of lack of vitamins on resistance of rat, rabbit und pigeon to bacterial infection.
J.Exp.Med. 34, 447
158. Wertmann, K., F.D.Crisley, J.L.Sarandria 1952
Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamin deficiency states. III. Riboflavin and folic acid deficiencies.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 80, 404
159. Wertmann, K., J.L.Sarandria 1951
Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamine deficiency states.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 76, 388
160. Wertmann, K., J.L.Sarandria 1951
Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamine deficiency states. II. Pyridoxine and nicotinic acid deficiencies.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 78, 332
161. Wertmann, K., J.L.Sarandria 1952
Complement-fixing murine typhus antibodies in vitamine deficiency states. IV. B₁₂ deficiency.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 81, 395
162. Wertmann, K., L.W.Smith, W.M. O'Leary 1954
The effects of vitamin deficiencies on some physiological factors of importance in resistance to infection.
J.Immun. 72, 196

163. Worbach, S.B., O.A.Bessey 1942
Tissue changes in vitamin deficiencies.
Phys.Rev. 22, 233
164. Wolf, G. 1961
Vitamin A in adrenal hormone and mucopolysaccharide biosynthesis.
Am.j.clin.nutr. 2, 36
165. Wolf, G., P.T.Varandani 1960
Studies on the function of vitamin A in mucopolysaccharide biosynthesis.
Biochim.biophys. A 43, 501
166. Wolf, G., P.T.Varandani, B.C.Johnson 1961
Vitamin A and mucopolysaccharid synthesizing enzyme.
Biochim.biophys.A 46, 59
167. Wolfe, H.R., E.Dilks 1948
Precipitin production in chickens.
III. The variation in the antibody response as correlated with the age of the animals.
J.Immun. 58, 245
168. Wolfe, H.R., A.Mueller, J.Nees, C. Tempelis 1957
Precipitin production in chickens.
XVI. The relationship of age to antibody production.
J.Immun. 79, 142
169. Wright, W.H. 1935
The relation of vitamin A deficiency to ascariasis in dog.
J.Parasit. 21, 433
170. Wright, H.P., J.B.Frosst, F.Puchel, M.R.Lawrence 1931
Vitamin A and the common cold.
Can.Med.Ass.J. 25, 412
171. Zimmermann, G. 1972
Beiträge zur Properdinforschung. 1. Mitteilung: Umriss des Properdinsystems und Problematik, Bestimmungs-möglichkeiten, Gewinnung hochtitriger Properdinseren.
Arch.Exp.Vet.Med. 26, 221

172. Zilva, S.S. 1919

The influence of deficient nutrition on the production of agglutinins, complement and amboceptor.

Biochem. J. 13, 172

173. Unveröffentlichte Vorschrift der Firma Hoffmann - La Roche, Grenzach, für VAS-Bestimmung in Futterproben.

Nach Beendigung meiner Arbeit gilt mein Dank dem verstorbenen Herrn Prof.Dr.Dr. Jürgen Tiews für die Überlassung des Themas sowie die unermüdliche Förderung der Arbeit.

Herrn Prof.Dr.Dr.Dr.h.c.mult Johannes Brüggemann möchte ich für die großzügig gewährten Arbeitsbedingungen an seinem Institut danken.

Frau Dr. Dorothee Herlyn gilt mein besonderer Dank für die mir jederzeit gewährte Förderung und Anregung meiner Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 4. Juli 1944 wurde ich, Eberhard Beck, als zweiter Sohn des Zahnarztes Dr. Hermann Beck und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Ehrhardt, in Ulm/Do. geboren.

Nach fünfjährigem Besuch der Volksschule trat ich in die Freie Schule in Ulm ein. Dort legte ich im März 1965 das Abitur ab. Von Frühjahr 1965 bis Herbst 1966 leistete ich ein Apothekerpraktikum ab.

Im Sommersemester 1967 begann ich an der Tierärztlichen Hochschule Hannover das Studium der Tiermedizin. Dort bestand ich im Frühjahr 1968 das Vorphysikum. Mein weiteres Studium setzte ich an der veterinärmedizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München fort. Im März 1972 schloß ich das Studium der Veterinärmedizin mit dem Staatsexamen ab.

Im Juli 1972 begann ich mit der Arbeit an vorliegender Dissertation, die ich im April 1974 abschloß.

